# Amersham™ WB system

## Bedienungsanleitung

### Übersetzt aus dem Englischen

Diese Seite ist absichtlich leer

# Inhaltsverzeichnis


**1 Einführung ..... 5**
- 1.1 Zu diesem Handbuch ..... 7
- 1.2 Wichtige Informationen für Benutzer ..... 8
- 1.3 Behördliche Vorschriften ..... 10
- 1.4 Amersham WB system Dokumentation ..... 14

**2 Sicherheitsanweisungen ..... 17**
- 2.1 Sicherheitsvorkehrungen ..... 18
- 2.2 Schilder ..... 27
- 2.3 Vorgehensweise in Notfällen ..... 33
- 2.4 Informationen zum Recycling ..... 35

**3 Systembeschreibung ..... 36**
- 3.1 Überblick über das Gerät ..... 37
- 3.2 Elpho & scan Geräteeinheit ..... 40
- 3.3 Western Geräteeinheit ..... 45
  - *3.3.1 Übersicht ..... 46*
  - *3.3.2 Fächer in der Western Geräteeinheit ..... 50*
  - *3.3.3 Flüssigkeitswege ..... 55*
- 3.4 Überblick über Zubehörteile und Verbrauchsmaterialien ..... 60
- 3.5 Prelabeling-Verbrauchsmaterialien ..... 65
- 3.6 Zubehörteile und Verbrauchsmaterialien für die Elektrophorese ..... 67
  - *3.6.1 Amersham WB molecular weight markers ..... 68*
  - *3.6.2 Amersham WB gel card ..... 71*
  - *3.6.3 Amersham WB buffer strip und Amersham WB buffer strip holder ..... 74*
  - *3.6.4 Amersham WB paper comb ..... 76*
- 3.7 Zubehörteile und Verbrauchsmaterialien für Western-Blot-Schritte ..... 77
  - *3.7.1 Zubehörteile und Verbrauchsmaterialien für den Transfer ..... 78*
  - *3.7.2 Sekundäre Antikörper - Sondierung ..... 83*
  - *3.7.3 Trocknungshalter – PVDF Kartentrocknung ..... 85*
  - *3.7.4 Membranadapter – PVDF Kartenscan ..... 86*
- 3.8 Sonstige Zubehörteile ..... 87
- 3.9 Überblick über die Software ..... 89

**4 Installation ..... 93**
- 4.1 Standortvorbereitung ..... 94
- 4.2 Hardwareinstallation ..... 97
- 4.3 Softwareinstallation ..... 111

**5 Durchführen eines Experiments ..... 116**
- 5.1 Übersicht ..... 118
- 5.2 Die Amersham WB analyzer starten. ..... 122
- 5.3 Einrichten eines Experiments in der Software ..... 124
- 5.4 Durchführen des Prelabelings von Proben ..... 128
- 5.5 Vorbereiten Amersham WB molecular weight markers ..... 132

5.6 Durchführen der Proteinelektrophorese ..... 134
*5.6.1 Vor der Elektrophorese ..... 135*
*5.6.2 Ausführen der Elektrophorese ..... 142*
*5.6.3 Verfahren nach Elektrophorese und Gelkarten-Scan ..... 146*
5.7 Durchführen des Transfers ..... 148
*5.7.1 Zubereiten und Anschließen der Transferlösungen ..... 149*
*5.7.2 Vorbereiten des Transfer-Sandwich ..... 151*
*5.7.3 Ausführen des Transfers ..... 166*
*5.7.4 Verfahren nach dem Transfer ..... 170*
5.8 Durchführen von Sondierung und Trocknung ..... 173
*5.8.1 Zubereiten und Anschließen der Sondierungs- und Antikörperlösungen ..... 174*
*5.8.2 Ausführen der Sondierung ..... 178*
*5.8.3 Verfahren nach der Sondierung ..... 183*
*5.8.4 Ausführen der Trocknung ..... 187*
5.9 Scannen der Membran und Anzeigen der Ergebnisse ..... 189

**6 Wartung ..... 194**
6.1 Wartungsprogramm ..... 197
6.2 Anweisungen zur Wartung ..... 202
*6.2.1 Wöchentliche Reinigung der Strömungswege für Transfer und Sondierung ..... 203*
*6.2.2 Austauschverfahren ..... 207*
*6.2.3 Umstellen der Geräteeinheiten ..... 219*

**7 Informationen zu Verweisen ..... 220**
7.1 Systemspezifikationen ..... 221
7.2 Leitfaden zur Chemikalienbeständigkeit ..... 226
7.3 Gesundheits- und Sicherheitserklärungsformular ..... 228
7.4 Übersetzungen von Zubehörteilen und Verbrauchsmaterialien ..... 230

**Index ..... 231**

# 1 Einführung

## Das Amersham WB system

Das Amersham WB system ist ein integriertes System für SDS-PAGE und die Western Blotting-Analyse von Proteinen anhand von Fluoreszenzdetektion. Elektrophorese, Scannen, Transfer und automatisierte Sondierungsschritte werden insgesamt von dem gleichen System durchgeführt. Es stehen Reagenzien für eine Vormarkierung und eine Antikörperdetektion sowie Gel- und Membranverbrauchsmaterial zur Verfügung.

Das Amersham WB system umfasst die Vorrichtung, den Amersham WB analyzer, Amersham WB software (Software) sowie Zubehör und Verbrauchsmaterialien. Der Amersham WB analyzer besteht aus zwei Einheiten, der Amersham WB elpho & scan Einheit und der Amersham WB western Einheit.

Das System unterstützt viele Anwendungsbereiche, von einer schnellen Untersuchung der Proteinzusammensetzung oder -häufigkeit bis zur fortgeschrittenen quantitativen Analyse für Vergleiche von Proteingehalten zwischen Proben. Proteine können mit dem Farbreagens Amersham WB Cy™5 vormarkiert und demzufolge nach der Elektrophorese direkt im Gel nachgewiesen werden. In Western Experimenten werden unmarkierte oder Cy5-vormarkierte Proteinproben auf Membranen transferiert, und Zielproteine können mittels Cy3 und/oder Cy5-konjugierter sekundärer Antikörper nachgewiesen werden. Der fluoreszenzbasierte Nachweis liefert eine hohe Empfindlichkeit und einen großen Kontrastumfang und ermöglicht Multiplex-Analysen bei der gleichen Western-Blot-Membran.

Die Multiplexanalyse von Gesamtprotein, das mit Cy5 vormarkiert und mit Cy3-markierten sekundären Antikörpern als Ziel erkannt wurde, ermöglicht eine Normalisierung der Zielsignale über das Gesamtprotein in jeder Bahn. Die benutzerfreundliche Amersham WB software zur Steuerung der einzelnen Schritte im Workflow und zur automatischen oder manuellen Auswertung Ihrer Ergebnisse ist Bestandteil des Systems.

Eine Liste übersetzter Namen von Zubehörteilen und Verbrauchsmaterialien finden Sie unter *Abschnitt 7.4 Übersetzungen von Zubehörteilen und Verbrauchsmaterialien, auf Seite 230*.

## In diesem Kapitel

Dieses Kapitel enthält die folgenden Abschnitte:


| Abschnitt | Siehe Seite |
|---|---|
| 1.1 Zu diesem Handbuch | 7 |

| Abschnitt | Siehe Seite |
|---|---|
| 1.2 Wichtige Informationen für Benutzer | 8 |
| 1.3 Behördliche Vorschriften | 10 |
| 1.4 Amersham WB system Dokumentation | 14 |

# 1.1 Zu diesem Handbuch

## Zweck dieses Handbuchs

Die *Bedienungsanleitung* enthält die Anweisungen, die zur sicheren Installation, Handhabung und Wartung des Amersham WB system erforderlich sind.

## Anwendungsbereich dieses Handbuchs

Die *Bedienungsanleitung* enthält die folgenden Informationen:

- Sicherheitsinformationen und behördliche Vorschriften
- eine Beschreibung des Systems einschließlich der Zubehörteile und Verbrauchsmaterialien, die mit dem System verwendet werden müssen
- Anweisungen zur Installation
- Informationen zur sicheren Durchführung eines Experiments
- Anweisungen zur Wartung durch den Benutzer
- Spezifikationen und weitere Referenzinformationen

## Typografische Konventionen

Software-Elemente werden im Text durch ***kursive Fettschrift*** gekennzeichnet. Ein Doppelpunkt trennt Menüebenen. So bezieht sich ***File:Open*** auf das Kommando ***Open*** im Menü ***File***.

Hardware-Elemente werden im Text durch **fettgedruckte** Schrift gekennzeichnet (z. B. **Power**-Schalter).

# 1.2 Wichtige Informationen für Benutzer

## Vor dem Betrieb des Amersham WB analyzer lesen

**Alle Benutzer müssen vor der Installation, Handhabung oder Wartung des Geräts die vollständige *Bedienungsanleitung* gelesen haben.** Die *Bedienungsanleitung* beim Betrieb des Amersham WB analyzer stets griffbereit halten.

Das Amersham WB analyzer nur wie in der Benutzerdokumentation beschrieben bedienen.
Andernfalls können Sie Gefahren ausgesetzt sein, die möglicherweise zu Verletzungen und Geräteschäden führen.

## Verwendungsbereiche

Amersham WB system ist ein Proteinelektrophorese- und Western-Blot-System, das Scans von Gelkarten und PVDF-Karten beinhaltet. Proteine können mit Cy5 vormarkiert werden und demzufolge nach der Elektrophorese direkt im Gel nachgewiesen werden. In Western Experimenten werden unmarkierte oder Cy5-vormarkierte Proteinproben auf Membranen transferiert, und Zielproteine können mittels Cy3- und/oder Cy5-konjugierter sekundärer Antikörper nachgewiesen werden. Der fluoreszenzbasierte Nachweis liefert eine hohe Empfindlichkeit und einen großen Kontrastumfang und ermöglicht Multiplex-Analysen bei der gleichen Western-Blot-Membran.

Amersham WB system ist nur für Forschungszwecke gedacht und darf nicht in klinischen Verfahren oder für Diagnosezwecke eingesetzt werden.

## Voraussetzungen

Für den bestimmungsgemäßen Betrieb des Systems müssen die folgenden Voraussetzungen erfüllt sein:

- Sie sollten allgemeine Kenntnisse der Funktionsweise von PC und Microsoft® Windows® besitzen.
- Sie müssen das Konzept der Elektrophorese und des Western Blotting verstehen.
- Das Gerät und die Software müssen gemäß den Anweisungen im Abschnitt *Kapitel 4 Installation, auf Seite 93* installiert werden.

***Tipp:*** *Um mehr über die Grundlagen und Methoden von Western Blotting zu lesen und eine Anleitung zur erfolgreichen Durchführung des Western Blotting zu erhalten, das Handbuch Western Blotting – Principles and Methods 28-9998-97 von www.gelifesciences.com herunterladen oder bestellen.*

## Sicherheitshinweise

Diese Benutzerdokumentation enthält Sicherheitshinweise (WARNUNG, VORSICHT und HINWEIS) zur sicheren Verwendung des Produkts. Siehe nachfolgende Definitionen.

**ACHTUNG**

**ACHTUNG** Weist auf eine gefährliche Situation hin, die zu schweren oder lebensbedrohlichen Verletzungen führen kann, falls sie nicht vermieden wird. Es darf erst dann fortgefahren werden, wenn alle angegebenen Bedingungen erfüllt und verstanden wurden.

**VORSICHT**

**VORSICHT** Weist auf eine gefährliche Situation hin, die zu leichten oder mittelschweren Verletzungen führen kann, falls sie nicht vermieden wird. Es darf erst dann fortgefahren werden, wenn alle angegebenen Bedingungen erfüllt und verstanden wurden.

**HINWEIS**

**HINWEIS** weist auf Anweisungen hin, die befolgt werden müssen, um Schäden am Produkt oder anderen Geräten zu vermeiden.

## Anmerkungen und Tipps

***Anmerkung:*** *Eine Anmerkung weist auf Informationen hin, die für eine störungsfreie und optimale Verwendung des Produkts wichtig sind.*

***Tipp:*** *Ein Tipp enthält nützliche Informationen, die Ihre Verfahren verbessern oder optimieren können.*

# 1.3 Behördliche Vorschriften

## Einführung

Dieser Abschnitt beschreibt die Richtlinien und Normen, die das Amersham WB system erfüllt.

## Herstellerinformationen

Die folgende Tabelle enthält eine Zusammenfassung der erforderlichen Herstellerinformationen. For further information, see the EU Declaration of Conformity (DoC) document.

| Anforderung | Inhalt |
|---|---|
| Name und Anschrift des Herstellers | GE Healthcare Bio-Sciences AB,<br>Björkgatan 30, SE 751 84 Uppsala, Sweden |

## Konformität mit EU-Richtlinien

Dieses Produkt entspricht den in der Tabelle aufgeführten europäischen Richtlinien, indem es die entsprechenden harmonisierten Normen erfüllt.

| Richtlinie | Titel |
|---|---|
| 2006/42/EC | Maschinenrichtlinie |
| 2004/108/EC | Richtlinie zur elektromagnetischen Verträglichkeit (EMV) |
| 2006/95/EC | Niederspannungsrichtlinie |

## CE-Kennzeichnung

Die CE-Kennzeichnung und die entsprechende EU-Konformitätserklärung sind für das Gerät gültig, wenn:

- als eigenständiges Gerät verwendet wird oder
- an andere Produkte angeschlossen ist, die in der Benutzerdokumentation empfohlen oder beschrieben sind und
- im selben Zustand verwendet wird, in dem es von GE ausgeliefert wurde, mit Ausnahme der in der Benutzerdokumentation beschriebenen Modifikationen.

## Internationale Normen

In der nachstehenden Tabelle sind die Normen angeführt, die von diesem Produkt erfüllt werden.

| Norm | Beschreibung | Hinweise |
|---|---|---|
| EN/IEC 61010-1, UL 61010-1, CAN/CSA-C22.2 Nr. 1010.1 | Sicherheitsanforderungen für elektrische Mess-, Steuer- und Laborgeräte. | Die EN-Norm stimmt mit der EU-Richtlinie 2006/95/EC überein. |
| EN/IEC61326-1<br>(Emissionen entsprechend CISPR 11, Gruppe 1, Klasse A) | Elektrische Mess-, Steuer- und Laborgeräte - EMV-Anforderungen | Die EN-Norm stimmt mit der EU-Richtlinie 2004/108/EC überein. |
| EN ISO 12100 | Sicherheit von Maschinen. Allgemeine Gestaltungsleitsätze. Risikobeurteilung und Risikoreduzierung. | Die EN-ISO-Norm stimmt mit der EU-Richtlinie 2006/42/EG überein. |
| EN/IEC 60825-1 | Sicherheit von Laserprodukten. | Die EN-Norm stimmt mit der EU-Richtlinie 2006/95/EC überein. |

## Laserbestimmungen und -standards

Bei diesem Gerät handelt es sich um ein Laserprodukt der Klasse 1 (IEC 60825-1:2007/EN 60825-1:2007).

Dieses Gerät erfüllt die Anforderungen an den Laserstrahlenschutz gemäß Code of the Federal Regulations (US-Bundesrichtlinien) (Titel 21 CFR, Kapitel 1, Unterkapitel J, Teil 1040-10 Laserprodukte).

## Einhaltung von FCC-Bestimmungen

Dieses Gerät entspricht Teil 15 der FCC-Bestimmungen. Voraussetzung für den Betrieb sind folgende zwei Bedingungen: (1) Dieses Gerät darf keine schädlichen Störungen verursachen und (2) dieses Gerät muss störfest gegenüber externen Störquellen sein, einschließlich Störstrahlungen, die einen ungewünschten Betrieb verursachen können.

***Anmerkung:*** *Der Benutzer wird eindringlich darauf hingewiesen, dass jegliche nicht ausdrücklich von GE genehmigten Änderungen zum Verlust der Nutzungsberechtigung für dieses Gerät führen können.*

Dieses Gerät wurde erfolgreich auf die Einhaltung der Grenzwerte eines Digitalgeräts der Klasse A gemäß Teil 15 der FCC-Bestimmungen getestet. Diese Grenzwerte dienen zur Gewährleistung eines angemessenen Schutzes vor schädlichen Störungen bei Betrieb des Geräts in einer gewerblichen Umgebung. Dieses Gerät erzeugt und verwendet Hochfrequenzenergie und kann diese abstrahlen. Es kann, wenn es nicht gemäß der Bedienungsanleitung installiert wird, schädliche Störungen im Funkverkehr erzeugen. Der Betrieb dieses Geräts in einem Wohngebiet verursacht vermutlich Störungen, die der Benutzer auf eigene Kosten korrigieren muss.

## Umweltkonformität

| Bestimmung | Titel |
|---|---|
| 2011/65/EU | Richtlinie zur Beschränkung der Verwendung bestimmter gefährlicher Stoffe (RoHS-Richtlinie) |
| 2012/19/EU | Richtlinie über die Abfallentsorgung von Elektro- und Elektronikaltgeräten (WEEE) |
| EG-Verordnung Nr. No 1907/2006 | Registrierung, Bewertung, Zulassung und Beschränkung chemischer Stoffe (REACH) |

| Bestimmung | Titel |
|---|---|
| ACPEIP | Verwaltung zur Kontrolle von durch Elektronikgeräten verursachte Umweltverschmutzungen, chinesische Richtlinie zur Beschränkung der Verwendung bestimmter gefährlicher Stoffe (RoHS-Richtlinie) |

## Einhaltung der Vorschriften der angeschlossenen Geräte

Alle Geräte, die an das Amersham WB analyzer angeschlossen sind, müssen die Sicherheitsanforderungen von IEC/EN/UL/CSA 61010-1, IEC/EN/UL/CSA 60950-1 oder andere relevante nationale Sicherheitsvorschriften und -normen erfüllen.

Die Geräte müssen gemäß den Anweisungen des Herstellers installiert und verwendet werden. Innerhalb der EU müssen angeschlossene Geräte das CE-Kennzeichen aufweisen.

# 1.4 Amersham WB system Dokumentation

## Einführung

Dieser Abschnitt beschreibt die Benutzerdokumentation und die zugehörigen Unterlagen für das Amersham WB system.

## Benutzerdokumentation

Die nachstehende Tabelle führt die Benutzerdokumentation auf, die im Lieferumfang des Amersham WB system enthalten ist.

| Dokument | Wesentlicher Inhalt | Verfügbarkeit |
|---|---|---|
| Amersham WB analyzer Anweisung zum Entpacken | Diese Anweisung erläutert das Auspacken des Amersham WB analyzer. | Im Amersham WB analyzer Versandkarton. |
| Amersham WB system Bedienungsanleitung | Dieses Handbuch enthält die Informationen, die für die folgenden Schritte erforderlich sind:<br>• Sichere Installation, Handhabung und Wartung des Amersham WB system<br>• Sichere Durchführung eines typischen Experiments<br>Es enthält außerdem Sicherheitsinformationen und gesetzliche Vorschriften, eine Beschreibung des Systems sowie Referenzinformationen. | Die englische Version im Druckformat wird zusammen mit dem System geliefert.<br>Übersetzte Versionen sind als PDF-Dateien auf der Benutzerdokumentations-CD enthalten. |

| Dokument | Wesentlicher Inhalt | Verfügbarkeit |
|---|---|---|
| Amersham WB system User Manual | Dieses Handbuch enthält die Informationen, die für die folgenden Schritte erforderlich sind:<br>• Sichere Bedienung und Wartung des Amersham WB system<br>• Planung, Durchführung und Auswertung von Elektrophorese- und Western Experimenten<br>• Fehlerbehebung bei System und Ergebnissen<br>Es enthält außerdem eine Beschreibung des Systems, Referenzinformationen und Bestellinformationen. | Als HTML-Handbuch im Hilfe-Menü von Amersham WB software integriert.<br>Auch als PDF-Datei auf der Benutzerdokumentations-CD enthalten. |
| Amersham WB software Help | Das Amersham WB software Help enthält Informationen über:<br>• Benutzer-Workflows für die Durchführung von Elektrophorese- und Western Experimenten<br>• Erläuterungen zur Software<br>• Links zum Amersham WB system User Manual für ausführliche Informationen über die Handhabung des Geräts, der Zubehörteile und der Verschleißmaterialien | In Amersham WB software integriert (im rechten Feld der Software). |

## Methodenhandbuch

Das Handbuch *Western Blotting – Principles and Methods* liefert eine Anleitung für den gesamten Western-Blotting-Workflow. Es beschreibt theoretische und praktische Aspekte der Technik und liefert nützliche Hinweise und Tipps. Das Handbuch zielt darauf ab, Anfänger und Experten zu erfolgreichem Western Blotting anzuleiten und zu inspirieren.

Das Handbuch *Western Blotting – Principles and Methods* 28-9998-97 von www.gelifesciences.com herunterladen oder bestellen.

## Datendateien und Anwendungshinweise

Datendateien und Anwendungshinweise können von www.gelifesciences.com heruntergeladen oder bestellt werden.

# 2 Sicherheitsanweisungen

## Zu diesem Kapitel

In diesem Kapitel werden die Sicherheitsvorkehrungen und die Verfahren zur Notausschaltung für das Amersham WB systembeschrieben. Außerdem werden die Schilder an den Geräten beschrieben und Informationen zum Recycling geliefert.

## In diesem Kapitel

Dieses Kapitel enthält die folgenden Abschnitte:


| Abschnitt | Siehe Seite |
|---|---|
| 2.1 Sicherheitsvorkehrungen | 18 |
| 2.2 Schilder | 27 |
| 2.3 Vorgehensweise in Notfällen | 33 |
| 2.4 Informationen zum Recycling | 35 |

# 2.1 Sicherheitsvorkehrungen

## Einführung

Das Amersham WB analyzer wird mit Netzstrom gespeist und arbeitet mit Flüssigkeiten, die gefährlich sein können. Vor Installation, Bedienung oder Wartung der Geräteeinheiten müssen Sie sich der in dieser Bedienungsanleitung beschriebenen Gefahren bewusst sein.

Während der sicheren Bedienung und Wartung des Systems und der sicheren Handhabung von Chemikalien stets örtliche Bestimmungen und Anweisungen befolgen.

**Die gegebenen Anweisungen befolgen, um Verletzungen oder Geräteschäden zu vermeiden**.

Die Sicherheitsvorkehrungen in diesem Abschnitt werden in folgende Kategorien unterteilt:

- Allgemeine Vorsichtsmaßnahmen
- Entflammbare Flüssigkeiten
- Personenschutz
- Installieren und Verstellen
- Systembedienung
- Wartung
- Entsorgung des Altgeräts

## Allgemeine Vorsichtsmaßnahmen

**ACHTUNG**

Das Amersham WB analyzer-System nur auf die im Bedienungsanleitung beschriebene Weise bedienen.

**ACHTUNG**

Kein Zubehör verwenden, das nicht von GE geliefert oder empfohlen wurde.

**ACHTUNG**

Das Amersham WB analyzer-Instrument keinesfalls verwenden, wenn es nicht ordnungsgemäß funktioniert bzw. beschädigt wurde, zum Beispiel:

- Beschädigung des Netzkabels oder Steckers
- Beschädigung durch Fallenlassen des Geräts
- Beschädigung an anderen Teilen, die die Funktion beeinträchtigen kann

## Entflammbare Flüssigkeiten

**VORSICHT**

**Brandgefahr.**

- Wenn an der Gehäuseaußenseite des Elpho & scan oder des Western Flüssigkeit ausgelaufen ist, die Stromzufuhr trennen und die Flüssigkeit abwischen.
- Wenn Flüssigkeit auf den Geräteeinheiten ausgelaufen ist, die in das Gehäuse des Elpho & scan oder Western Geräts eindringt, das Netzkabel von den Geräten ziehen und den Kundendienst verständigen.

**VORSICHT**

**Brandgefahr.** Sicherstellen, dass der Ablaufschlauch von der Western Geräteeinheit in einen Ablaufbehälter unter dem Arbeitstisch geführt wird und vor dem Start eines Programmlaufs keine Leckage vorliegt. Benötigt wird ein Ablaufbehälter von mindestens 4 l.

**VORSICHT**

**Brandgefahr.** Keine Transferpufferlösungen verwenden, die mehr als 40 % Ethanol oder 40 % Methanol enthalten. Es wird empfohlen, in Transferpuffern lediglich 20 % Ethanol zu verwenden.

## Personenschutz

**ACHTUNG**

Beim Umgang mit Gelkarten, PVDF-Karten und anderen Verbrauchsmaterialien, die im Lieferumfang des Amersham WB system enthalten sind, stets Handschuhe, Schutzkleidung und eine Schutzbrille tragen.

**ACHTUNG**

Beim Arbeiten mit dem Prelabeling von Proteinproben:

- Stets Schutzkleidung, Handschuhe und eine Schutzbrille tragen.
- Vor dem Prelabeling von Proben das Sicherheitsdatenblatt (SDB) lesen.

**ACHTUNG**

Das Amersham WB analyzer ist ein Klasse-A-Produkt. Im Wohnbereich kann dieses Produkt Funkstörungen verursachen. In diesem Fall muss der Benutzer entsprechende Maßnahmen ergreifen.

**VORSICHT**

**Gefahrstoffe.**Bei Verwendung von gefährlichen chemischen und biologischen Substanzen alle angemessenen Schutzmaßnahmen beachten; wie beispielsweise das Tragen einer Schutzbrille sowie von Handschuhen, die resistent gegen die verwendeten Substanzen sind. Regionale und/oder nationale Vorschriften für den sicheren Betrieb bzw. gefahrlose Wartung und Entsorgung des Geräts befolgen.

**VORSICHT**

Wenn das Prelabeling von Proteinen in Proben durchgeführt wurde, kann sich durch Spuren von Dimethylsulfid (DMS) und Dimethylsulfoxid (DMSO) ein stechender Geruch entwickeln. Eine örtliche Absauganlage kann erforderlich sein. Örtliche Bestimmungen und Anweisungen für den sicheren Betrieb befolgen.

**VORSICHT**

Während des Betriebs und der Wartung des Amersham WB analyzer stets Handschuhe, Schutzkleidung und eine Schutzbrille tragen.

**VORSICHT**

**Persönliche Schutzausrüstung (PSA).** Wenn das System verpackt, ausgepackt, transportiert bzw. umgestellt werden soll, muss die folgende Schutzausrüstung getragen werden:

- Sicherheitsschuhwerk, vorzugsweise mit Stahlauskleidung
- Arbeitshandschuhe, die Schutz gegen scharfe Kanten bieten
- Schutzbrille

## Installieren und Verstellen

**ACHTUNG**

Das Amersham WB analyzer in einem Raum mit Absauganlage aufstellen, wenn Methanol oder andere Chemikalien verwendet werden, für die eine Entlüftung erforderlich ist.

**ACHTUNG**

**Versorgungsspannung.** Vor dem Anschließen des Netzkabels sicherstellen, dass die Versorgungsspannung an der Wandsteckdose der Kennzeichnung am Gerät entspricht.

**ACHTUNG**

Sicherstellen, dass das System auf einem stabilen flachen Arbeitstisch mit ausreichend Raum zur Belüftung aufgestellt wird.

**ACHTUNG**

Zugang zu Netzschalter und Netzkabel nicht versperren. Der Netzschalter muss stets gut zugänglich sein. Das Netzkabel mit Stecker muss stets schnell herausgezogen werden können.

**ACHTUNG**

**Schutzerdung und Netzkabel.**

Das Amersham WB analyzer muss stets an eine geerdete Steckdose angeschlossen werden.

Nur ein zugelassenes dreiadriges Netzkabel verwenden, das von GE geliefert oder zugelassen wurde oder mit allen geltenden örtlichen elektrotechnischen Anforderungen übereinstimmt.

**VORSICHT**

Die Western Geräteeinheit niemals bewegen, wenn Flaschen auf dem Gerät stehen.

**VORSICHT**

**Schweres Objekt.** Zum sicheren Anheben der Geräteeinheiten sind zwei Personen erforderlich.

**HINWEIS**

Jeder zusammen mit dem Gerät verwendete Computer muss IEC/EN/UL/CSA 60950-1 oder andere Sicherheitsvorschriften erfüllen. Er sollte gemäß den Anweisungen des Herstellers installiert und verwendet werden.

**HINWEIS**

**Kabel ziehen.** Vor dem Bewegen einer Geräteeinheit stets Kabel ziehen, um eine Beschädigung des Geräts zu vermeiden.

## Systembedienung

**ACHTUNG**

**Geplatztes Glas.** Das System nicht arbeiten lassen, wenn das Glas im Dichtungsdeckel der Elpho & scan Geräteeinheit verkratzt oder zerbrochen ist. Das Gerät ausschalten, das Stromkabel ziehen und einen autorisierten Servicetechniker verständigen.

**ACHTUNG**

**Stromschlaggefahr nach Verschütten während eines Programmlaufs.** Wenn die Gefahr besteht, dass verschüttete Flüssigkeit in das Gehäuse des Amersham WB analyzer eindringen kann, das Gerät sofort ausschalten, das Stromkabel ziehen und einen Servicetechniker verständigen.

**ACHTUNG**

Nach der Elektrophorese oder nach dem Transfer (wenn das Transfer-Sandwich geöffnet und die PVDF Karte in das Sondierungsfach gelegt wurde) entsorgen Sie das Gel auf sichere Weise. Lesen Sie Sicherheitsdatenblätter (SDS/MSDS) der Gelkarte in Bezug auf Sicherheitshinweise in Bezug auf das Gel und die Entsorgung des Gels.

**VORSICHT**

**Bewegliche Teile.** Beim Öffnen/Schließen des Laders darauf achten, dass Finger oder Kleidung nicht eingeklemmt werden, wenn der Lader sich bewegt.

Flaschen oder Fläschchen niemals vor die Elpho & scan Geräteeinheit stellen. Sie könnten beim Öffnen des Laders herunterfallen.

**VORSICHT**

**Stromschlaggefahr.** Einen laufenden Transferlauf stets stoppen, bevor Flüssigkeit vom Gerät oder Arbeitstisch aufgewischt wird.

**VORSICHT**

**Quetschgefahr.** Die bewegte Sondierungskammer während eines Programmlaufs nicht berühren.

**VORSICHT**

Keine Abdeckungen der Elpho & scan Geräteeinheit entfernen. Die Geräteeinheit enthält einen Laser der Klasse 3B.

**VORSICHT**

Um das Verspritzen von gefährlichen Flüssigkeiten zu vermeiden, in Flaschen starke Einlassfilter verwenden, die mit einem Schlauch verbunden sind.

**HINWEIS**

Nur Chemikalien verwenden, die im Leitfaden zur Chemikalienbeständigkeit aufgeführt sind.

## Wartung

**ACHTUNG**

**Stromschlaggefahr.** Alle Reparaturen müssen von Servicepersonal durchgeführt werden, das von GE autorisiert ist. Öffnen Sie keine Abdeckungen oder Ersatzteile, es sei denn, dies ist in der Benutzerdokumentation ausdrücklich angegeben.

**ACHTUNG**

**Die Stromzufuhr trennen.** Bevor Teile am Gerät ausgetauscht werden, stets die Stromzufuhr zum Gerät trennen, wenn in der Benutzerdokumentation nicht anderweitig angegeben.

**ACHTUNG**

Vor dem Öffnen des Wartungskammerdeckels alle Flaschen aus dem Flaschengestell entfernen.

**ACHTUNG**

Bei Verwendung von gefährlichen Chemikalien, Verschütten vermeiden und eine Schutzbrille und andere Personenschutzausrüstung tragen. NaOH beispielsweise ist ätzend und daher gesundheitsschädlich.

**ACHTUNG**

Für die Wartung oder Instandsetzung des Systems dürfen nur Ersatz- und Zubehörteile verwendet werden, die von GE zugelassen oder geliefert wurden.

**ACHTUNG**

Beim Austausch eines beschädigten Netzkabels ein Ersatzkabel desselben Typs und derselben Maße verwenden, das alle geltenden örtlichen elektrotechnischen Anforderungen erfüllt und von GE zugelassen wurde.

**ACHTUNG**

Vor einem Austausch der Netzsicherung stets die Netzstromversorgung trennen. Für ununterbrochenen Schutz gegen die Brandgefahr nur gegen eine Sicherung austauschen, deren Typ und Leistung den Angaben auf den Geräteetiketten entspricht.

**VORSICHT**

Bei Verwendung von gefährlichen Chemikalien alle angemessenen Schutzmaßnahmen einhalten, wie beispielsweise das Tragen einer Schutzbrille und Handschuhe, die resistent gegen die verwendeten Substanzen sind. Lokale Vorschriften und Anweisungen für den sicheren Betrieb und die Wartung des Systems befolgen.

## Instandsetzung

**ACHTUNG**

Das Gerät vor der Instandsetzung dekontaminieren, um sicherzustellen, dass gefährliche Rückstände entfernt wurden.

## Entsorgung des Altgeräts

**ACHTUNG**

Das Gerät vor der Entsorgung dekontaminieren, um sicherzustellen, dass gefährliche Rückstände entfernt wurden.

# 2.2 Schilder

## Einführung

Dieser Abschnitt beschreibt die Sicherheits- und Warnschilder bezüglich gefährlicher Substanzen am Amersham WB analyzer. Informationen zu Computer-Kennzeichnungen finden Sie in den jeweiligen Herstelleranweisungen.

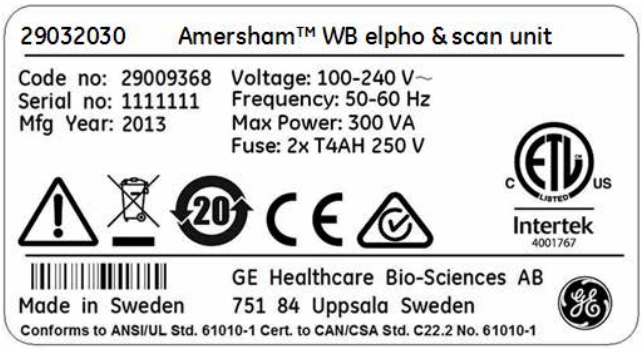
## Position der Schilder am Amersham WB analyzer

Die nachstehende Abbildung zeigt die Position der Schilder an der Elpho & scan Geräteeinheit und der Western Geräteeinheit.

| Teil | Beschreibung |
|---|---|
| 1 | **Computer** |
| 2 | **Western unit** |
| 3 | Produktschild für die Amersham WB elpho & scan Geräteeinheit |
| 4 | Sicherheitsschild bezüglich Laserlicht |
| 5 | Produktschild für die Amersham WB western Geräteeinheit |
| 6 | **Elpho & scan unit** |
| 7 | **Only for service** |

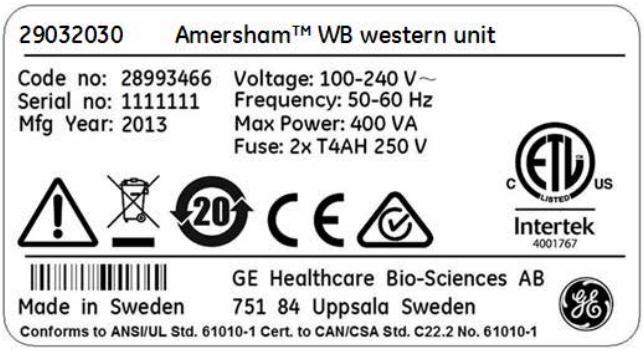
## Schild an der Elpho & scan Geräteeinheit

Die nachstehende Abbildung zeigt ein Beispiel für das Produktschild an der Elpho & scan Geräteeinheit. Das Schild befindet sich auf der Rückseite der Geräteeinheit.



## Schild an der Western Geräteeinheit

Die nachstehende Abbildung zeigt ein Beispiel für das Produktschild an der Western Geräteeinheit. Das Schild befindet sich auf der Rückseite der Geräteeinheit.




## Sicherheitssymbole auf den Schildern der Geräteeinheiten

Auf den Schildern werden die folgenden Sicherheitssymbole verwendet:

| Beschriftung | Beschreibung |
|---|---|
| | **ACHTUNG!** Vor Verwendung des Systems die Benutzerdokumentation lesen. Keine Abdeckungen öffnen oder Teile austauschen, es sei denn, dies wird ausdrücklich in der Benutzerdokumentation angegeben. |
| | Das System erfüllt geltende europäische Richtlinien. Siehe *Internationale Normen, auf Seite 11*. |
| | Das System erfüllt die geltenden Anforderungen in Australien und Neuseeland. |

| Beschriftung | Beschreibung |
|---|---|
| | Dieses Symbol zeigt an, dass das Amersham WB system von einem national anerkannten Testlabor (NTRL) zertifiziert wurde. Ein NRTL ist eine Einrichtung, die von der US-amerikanischen Behörde für Unfallverhütung und Gesundheitsschutz am Arbeitsplatz (Occupational Safety and Health Administration, OSHA) anerkannt ist, da sie die gesetzlichen Vorschriften in den USA (Titel 29 der Bundesgesetzsammlung [Code of Federal Regulations, 29 CFR] Teil 1910.7) erfüllt. |

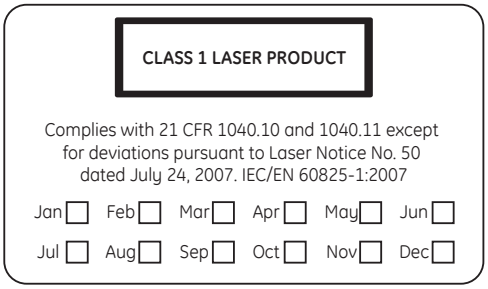
## Symbole bezüglich gefährlicher Substanzen auf Schildern der Geräteeinheiten

Die folgenden Symbole auf den Schildern beziehen sich auf Gefahrenstoffe:

| Beschriftung | Beschreibung |
|---|---|
| | Dieses Symbol kennzeichnet Elektro- und Elektronikaltgeräte, die nicht mit dem unsortierten Haus- oder Sperrmüll entsorgt werden dürfen, sondern getrennt zu sammeln sind. Nehmen Sie Kontakt mit einem autorisierten Vertreter des Herstellers auf, um Informationen hinsichtlich der Entsorgung des Geräts zu erhalten. |
| | Dieses Symbol zeigt an, dass das Produkt gefährliche Materialien enthält, welche die Grenzen übersteigen, die in dem chinesischen Standard SJ/11363-2006 Anforderungen zu Konzentrationsbegrenzungen für bestimmte gefährliche Substanzen in elektronischen Geräten gefordert sind. |

## Sicherheitsschild bezüglich Laserlicht

Die folgenden Schilder betreffen Laserlicht, und das erste ist auf der hinteren Verkleidung des Elpho & scan-Geräts angebracht. Das zweite ist im Elpho & scan-Lader angebracht:

| Beschriftung | Beschreibung |
|---|---|
|  | Bei diesem Gerät handelt es sich um ein Laserprodukt der Klasse 1 (IEC 60825-1:2007/EN 60825-1:2007).<br>Dieses Gerät erfüllt die Anforderungen an den Laserstrahlenschutz gemäß US-Bundesgesetzsammlung (Code of the Federal Regulations) (Titel 21 CFR, Kapitel 1, Unterkapitel J, Teil 1040-10 Laserprodukte).<br>Auf dem Schild ist auch der Herstellungsmonat angegeben. |
| | Das Symbol ist sichtbar, wenn der Elpho & scan-Lader geöffnet ist. |

# 2.3 Vorgehensweise in Notfällen

## Einführung

Dieser Abschnitt beschreibt die Durchführung einer Notausschaltung des Amersham WB analyzer und die Konsequenzen bei einem Stromausfalls.

## Notausschaltung

In einer Notsituation die Netzkabel von der **Rückseite** der Elpho & scan Geräteeinheit und der Western Geräteeinheit abziehen.

So wird sichergestellt, dass die Stromzufuhr sofort unterbrochen wird, auch wenn eine unterbrechungsfreie Stromversorgung (USV) verwendet wird.

## Stromausfall

Die Konsequenzen eines Stromausfalls werden nachstehend beschrieben:

| Stromausfall an... | führt zu... |
|---|---|
| Amersham WB analyzer | • Alle laufenden Experimente werden gestoppt. Experimente werden nicht fortgesetzt, wenn die Stromzufuhr wieder aktiviert wird.<br><br>***Anmerkung:***<br><br>*Eine USV kann den Datenverlust während und nach einem Stromausfall unterbinden und Zeit für einen kontrollierte Ausschaltung des Amersham WB analyzer bieten.*<br><br>• Der Zeitpunkt des Stopps wird in der Software für die Geräteeinheiten protokolliert. |

| Stromausfall an... | führt zu... |
|---|---|
| Computer | • Der an die Elpho & scan Geräteeinheit angeschlossene Computer fährt herunter.<br>• Alle laufenden Experimente werden unter der Voraussetzung fortgesetzt und beendet, dass das Gerät noch mit Strom versorgt wird.<br>• Wenn der Computer neu gestartet und die Verbindung wiederhergestellt wird, werden die Ergebnisse des Experiments gespeichert. Bilder werden gegebenenfalls gescannt. |

## Neustart nach einer Notausschaltung oder einem Stromausfall am Gerät

Wenn die Stromzufuhr wiederhergestellt wird, werden keine Experimente fortgesetzt, die zum Zeitpunkt der Notausschaltung durchgeführt wurden. Folgendermaßen fortfahren:

| Schritt | Maßnahme |
|---|---|
| 1 | Wenn die Netzkabel abgezogen wurden, die Kabel an der Rückseite der Geräteeinheiten anschließen.<br>Sicherstellen, dass die Netzschalter auf der Rückseite der Geräteeinheiten eingeschaltet sind (**I**).<br>*Ergebnis:* Die Geräteeinheiten werden gestartet. |
| 2 | Den Computer und die Software starten (siehe *Starten der Software, auf Seite 124*).<br>Wenn die Geräteeinheiten angeschlossen sind, wird das Protokollereignis im Experimenteprotokoll gespeichert. |
| 3 | Wenn ein Programmlauf abgeschlossen werden soll, der unterbrochen wurde, die Experimentdatei für den Programmlauf öffnen. Danach das Dialogfeld ***Experiment Information*** (Informationen zum Experiment) öffnen und die Registerkarte ***Experiment log*** (Experimenteprotokoll) auswählen. Auf der Registerkarte ***Experiment log*** (Experimenteprotokoll) überprüfen, in welchem Schritt das Experiment unterbrochen wurde. Die Teile des Schritts entfernen, die beendet waren, als der Programmlauf unterbrochen wurde, und den Schritt neu starten. |

# 2.4 Informationen zum Recycling

## Einführung

Dieser Abschnitt enthält Informationen über die Entsorgung des Amersham WB analyzer.

## Dekontamination

Das Amersham WB analyzer muss vor der Entsorgung dekontaminiert werden, und bei der Verschrottung des Geräts müssen alle örtlichen Vorschriften befolgt werden.

## Entsorgung, allgemeine Anweisungen

Wenn das Amersham WB analyzer außer Betrieb gesetzt wird, müssen die unterschiedlichen Werkstoffe gemäß den nationalen und örtlichen Umweltbestimmungen getrennt und recycelt werden.

## Recycling gefährlicher Substanzen

Das Amersham WB analyzer enthält gefährliche Substanzen. Ausführliche Informationen erhalten Sie von Ihrem GE-Vertreter.

## Entsorgung elektrischer Komponenten

Elektro- und Elektronik-Altgeräte dürfen nicht als unsortierter Hausmüll entsorgt werden und sind getrennt zu sammeln. Nehmen Sie Kontakt mit einem autorisierten Vertreter des Herstellers auf, um Informationen hinsichtlich der Entsorgung des Geräts zu erhalten.

# 3 Systembeschreibung

## Zu diesem Kapitel

In diesem Kapitel werden die verschiedenen Bestandteile des Amersham WB system beschrieben. Das Amersham WB system besteht aus:

- Amersham WB analyzer (zwei Geräteeinheiten)
- Zubehörteile und Verbrauchsmaterialien zur Verwendung mit dem Gerät
- ein Computer (nicht im Lieferumfang enthalten)
- Amersham WB software

## In diesem Kapitel

Dieses Kapitel enthält die folgenden Abschnitte:


| Abschnitt | Siehe Seite |
|---|---|
| 3.1 Überblick über das Gerät | 37 |
| 3.2 Elpho & scan Geräteeinheit | 40 |
| 3.3 Western Geräteeinheit | 45 |
| 3.4 Überblick über Zubehörteile und Verbrauchsmaterialien | 60 |
| 3.5 Prelabeling-Verbrauchsmaterialien | 65 |
| 3.6 Zubehörteile und Verbrauchsmaterialien für die Elektrophorese | 67 |
| 3.7 Zubehörteile und Verbrauchsmaterialien für Western-Blot-Schritte | 77 |
| 3.8 Sonstige Zubehörteile | 87 |
| 3.9 Überblick über die Software | 89 |

# 3.1 Überblick über das Gerät

## Einführung

Dieser Abschnitt liefert einen Überblick über das Amersham WB analyzer.

Das Amersham WB analyzer besteht aus zwei Geräteeinheiten:

- Amersham WB elpho & scan Geräteeinheit
- Amersham WB western Geräteeinheit

Die Geräteeinheiten werden von einem PC gesteuert, der mit Amersham WB software läuft.

***Anmerkung:*** *Die Geräteeinheiten müssen während eines Programmlaufs stets miteinander verbunden sein. Beide Geräteeinheiten müssen eingeschaltet sein, wenn ein Experiment in der Western Geräteeinheit ausgeführt wird.*

## Sicherheitsschalter

Die Elpho & scan Geräteeinheit arbeitet mit Hochspannung und enthält zwei Laser. Die Geräteeinheit besitzt doppelte Sicherheitsschalter, die die Stromzufuhr zum Hochspannungswandler und den Lasern stoppen, wenn der Lader geöffnet wird.

Innerhalb des Transferbehälters der Western Geräteeinheit liegt Hochspannung an. Die Geräteeinheit besitzt Sicherheitsschalter, die die Stromzufuhr stoppen, wenn der Transferbehälterdeckel geöffnet wird.

## Abbildung des Amersham WB analyzer

Die Abbildung zeigt das Amersham WB analyzer, mit der Elpho & scan Geräteeinheit links und der Western Geräteeinheit rechts.

## Abbildung der Gerätebedienfelder

Für jedes Fach in den Geräteeinheiten (Elektrophorese und Scan, Transfer, Sondierung und Trocknung) steht die gleiche Anordnung von Kontrolllampen zur Verfügung. Wenn die Geräteeinheiten eingeschaltet sind, leuchten die Kontrolllampen mit den Fachnamen auf. Die Anzeigen befinden sich auf dem Bedienfeld der einzelnen Geräteeinheiten.

Die nachstehende Abbildung zeigt die Bedienfelder an den zwei Geräteeinheiten, mit aufleuchtenden Fachnamen.

## Anzeigen am Gerät

Die folgende Tabelle beschreibt die verschiedenen Indikatoren. Die Indikatoren (Bereit/Lauf beendet, Ausführen und Fehler oder Warnung) sind für alle Instrumente und Fächer identisch. In diesem Beispiel werden die **TRANSFER** Indikatoren beschrieben.

| Statusanzeigen | Status | Beschreibung |
|---|---|---|
| | Start | Der Text leuchtet auf, wenn das Gerät startet und interne Tests vornimmt. |
| | Bereit/Programm-lauf beendet | Die Lampe leuchtet auf, wenn:<br>• die Geräteeinheit / das Fach für ein neues Experiment bereit ist<br>• ein Schritt (also Elektrophorese, Scannen, Transfer, Sondierung oder Trocknung) abgeschlossen wurde |
| | Run (Laufposition) | Die Lampe leuchtet auf:<br>• wenn die Geräteeinheit / das Fach arbeitet<br>• während der Reinigung der Strö-mungswege für Transfer oder Son-dierung<br>***Anmerkung:***<br>*Den/die zugehörigen Deckel während des Programmlaufs nicht öffnen. Das Öffnen des Transferdeckels während des Transfers stoppt z. B. den Transferlauf und kann das Ergebnis beeinträchtigen.* |
| | Fehler oder Warnung | Die Lampe leuchtet auf, wenn ein Fehler aufgetreten ist<br>Informationen zum Fehler finden Sie in der Amersham WB software.<br>Vorschläge zur Behebung des Problems werden von der Software geliefert. |

# 3.2 Elpho & scan Geräteeinheit

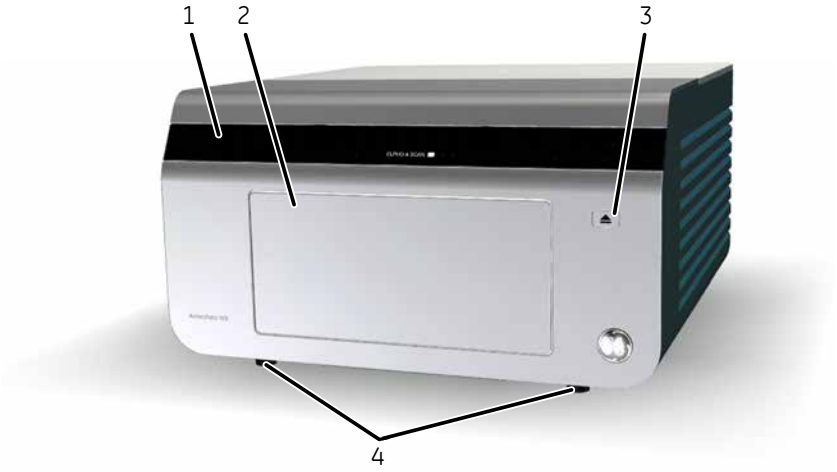
## Einführung

Die Elpho & scan Geräteeinheit wird zur Trennung von SDS-behandelten Probenproteinen in einem Polyacrylamid-Gel verwendet. Es wird außerdem eingesetzt, um Gele nach der Elektrophorese und PVDF-Karten nach der Sondierung und Trocknung in einem Western Experiment zu scannen.

Dieser Abschnitt liefert einen Überblick über die Elpho & scan Geräteeinheit.

## Abbildung der Elpho & scan Geräteeinheit

Die nachstehende Abbildung zeigt die Hauptbestandteile der Elpho & scan Geräteeinheit:

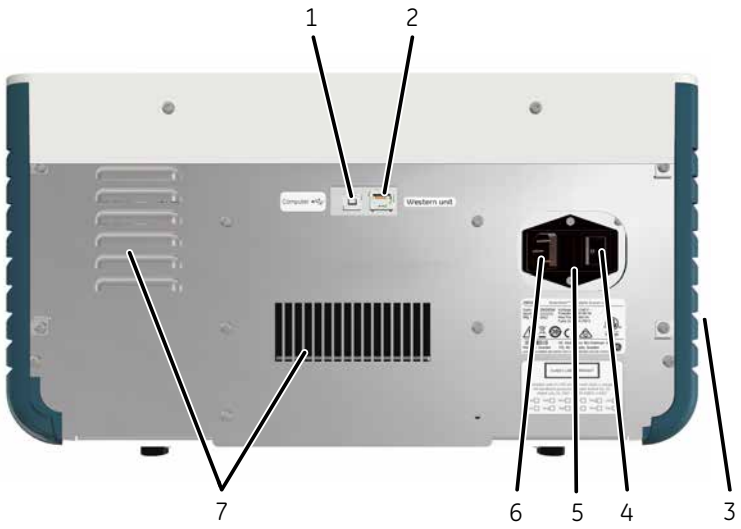



| Teil | Beschreibung |
|---|---|
| 1 | Gerätebedienfeld (mit Statusanzeigen) |
| 2 | Elpho & scan Lader<br>Zum Laden von Gelkarten oder PVDF-Karten. |

| Teil | Beschreibung |
|---|---|
| 3 | Auswurftaste<br> <br>Zum Öffnen/Schließen des Laders für das Elektrophorese- und Scanfach.<br>***Anmerkung:***<br>*Der Lader kann nur dann geöffnet werden, wenn kein Elektrophorese- oder Scanexperiment läuft. Jeder laufende Programmlauf muss zunächst mit der passenden Softwareanweisung gestoppt werden, damit der Lader ausgeworfen werden kann.* |
| 4 | Einstellbare Standfüße (4 Standfüße, ein Fuß an jeder Ecke) |

## Abbildung der Rückseite der Elpho & scan Geräteeinheit

Die nachstehende Abbildung zeigt die Hauptbestandteile auf der Rückseite der Elpho & scan Geräteeinheit:



| Teil | Beschreibung |
|---|---|
| 1 | USB-Kabelanschluss (USB-Typ B)<br>Zum Anschluss der Elpho & scan Geräteeinheit an einen Computer. |
| 2 | Kommunikationsanschluss für die Western Geräteeinheit (Ethernet-Kabel verwenden) |
| 3 | Lufteinlass |
| 4 | Netzschalter<br>AN=**I**, AUS=**O** |
| 5 | Sicherungskasten (5x20 mm) |
| 6 | Anschluss für Netzkabel (60320/C14) |
| 7 | Luftauslässe |

## Elpho & scan Lader

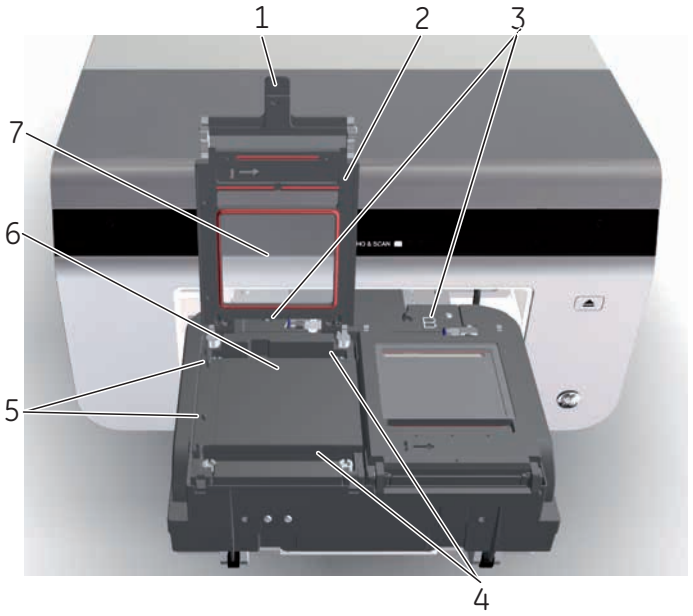
Der Elpho & scan Lader wird eingesetzt, um Folgendes zu laden:

- Gelkarten für Elektrophorese und das Scannen
- PVDF-Karten für das Scannen. Beim Laden von PVDF-Karten für das Scannen muss zunächst ein Amersham WB membrane adapter auf der Kartenplatte platziert werden (weitere Informationen siehe *Abschnitt 5.9 Scannen der Membran und Anzeigen der Ergebnisse, auf Seite 189*).

Durch Betätigung der Auswurftaste auf der Vorderseite wird der Lader aus der Elpho & scan Geräteeinheit ausgeworfen.

## Abbildung des Elpho & scan Lademoduls

Die nachstehende Abbildung zeigt die Elpho & scan Geräteeinheit mit ausgeworfenem Lader, bei der die Dichtungsdeckel der linken Kartenplatte geöffnet sind.




| Teil | Beschreibung |
|---|---|
| 1 | Verschluss<br>Zum Öffnen des Dichtungsdeckels. |
| 2 | Dichtungsdeckel |
| 3 | Anzeige von Position **A** und Position **B** |
| 4 | Aushöhlungen<br>Für Pufferstreifenhalter mit elektrischen Anschlüssen für die Pufferelektroden. |
| 5 | Führungsstifte<br>Zur richtigen Platzierung von Gelkarten oder Membranadaptern einschließlich PVDF-Karten. |
| 6 | Kartenplatte<br>Zur Kühlung von Gelkarten und zur flachen Fixierung von Karten während des Scans. |

| Teil | Beschreibung |
|---|---|
| 7 | Schutzglas |

# 3.3 Western Geräteeinheit

## Einführung

Die Western Geräteeinheit wird für folgende Aufgaben verwendet:

- Transfer der getrennten Proteine im Gel auf die Membran
- Sondierung der Proteine auf der Membran mit primären Antikörpern und danach mit sekundären Antikörpern, die auf einen CyDye™ konjugiert sind
- Trocknung der PVDF-Karten (vor dem Scannen in der Elpho & scan Geräteeinheit)

Dieser Abschnitt liefert einen Überblick über die Western Geräteeinheit.

## In diesem Abschnitt

Dieser Abschnitt enthält die folgenden Unterabschnitte:


| Abschnitt | Siehe Seite |
|---|---|
| 3.3.1 Übersicht | 46 |
| 3.3.2 Fächer in der Western Geräteeinheit | 50 |
| 3.3.3 Flüssigkeitswege | 55 |

# 3.3.1 Übersicht

## Einführung

Dieser Abschnitt liefert einen Überblick über die Vorder- und Rückseite der Western Geräteeinheit.

## Abbildung der Western Geräteeinheit

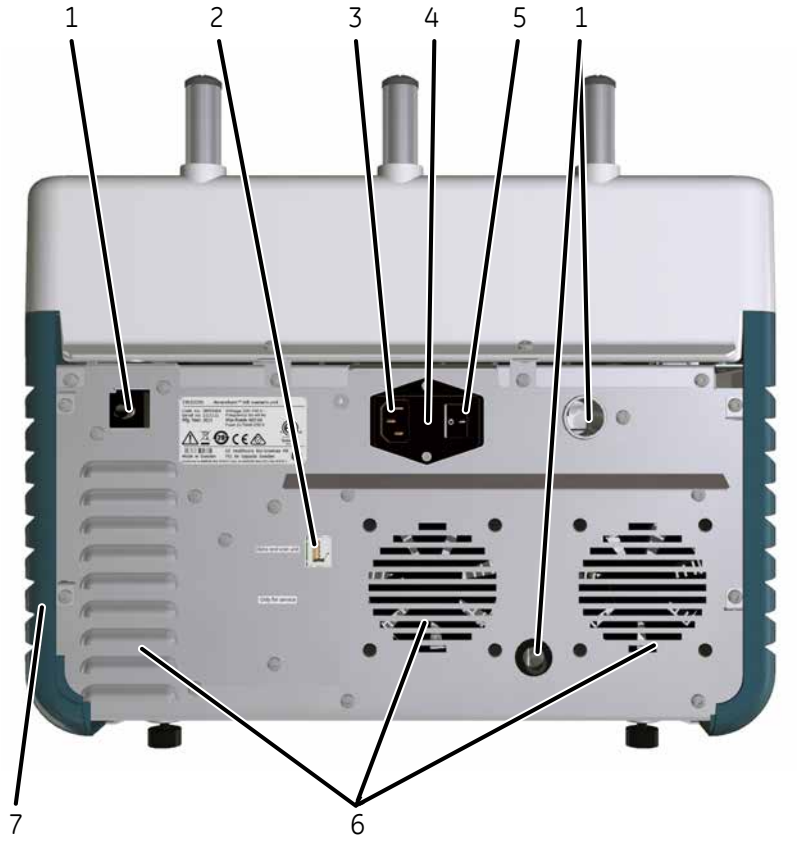
Die nachstehende Abbildung zeigt die Hauptbestandteile der Western Geräteeinheit:

| Teil | Beschreibung |
|---|---|
| 1 | Deckel des Antikörperfachs |
| 2 | Bereich, der gedrückt wird, um den Deckel des Antikörperfachs zu öffnen |
| 3 | Gerätebedienfeld (für die Statusanzeigen) |
| 4 | Transferbehälterdeckel |

| Teil | Beschreibung |
|---|---|
| 5 | Flaschengestell (und Wartungsfachdeckel)<br>***Anmerkung:***<br>*Das Flaschengestell nur dann abnehmen, wenn die Pumpen und Schläuche inspiziert werden oder wenn wie in Kapitel 6 Wartung, auf Seite 194 beschrieben Teile ausgetauscht werden.* |
| 6 | Schlauchhalter |
| 7 | Sondierungsfachdeckel |
| 8 | Trocknungsfachdeckel |

## Abbildung der Rückseite der Western Geräteeinheit

Die nachstehende Abbildung zeigt die Hauptbestandteile auf der Rückseite der Western Geräteeinheit:




| Teil | Beschreibung |
|---|---|
| 1 | Auslässe für Ablauf und Überlaufschlauch |
| 2 | Kommunikationsanschluss für das Elpho & scan (Ethernet-Kabel verwenden) |
| 3 | Anschluss für Netzkabel (60320/C14) |
| 4 | Sicherungskasten (5x20 mm) |
| 5 | Netzschalter (AN=**I**, AUS=**O**) |
| 6 | Luftauslässe |

| Teil | Beschreibung |
|---|---|
| 7 | Lufteinlass |

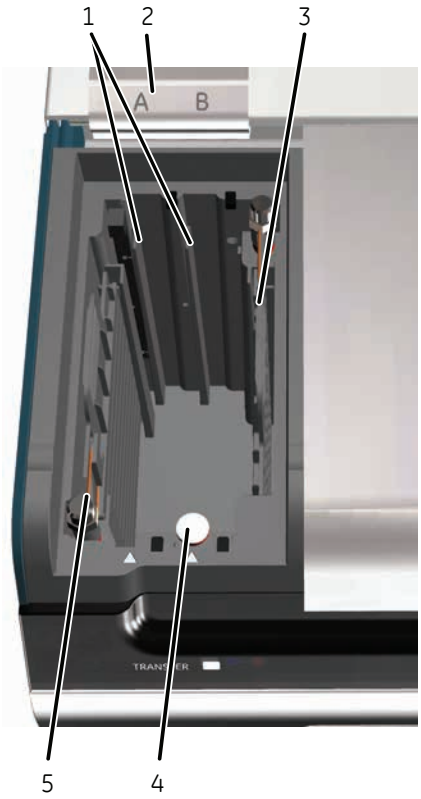
# 3.3.2 Fächer in der Western Geräteeinheit

## Einführung

Dieser Abschnitt beschreibt die verschiedenen Fächer der Western Geräteeinheit bei geöffneten Deckeln.

## Abbildung des Transferbehälters

Die nachstehende Abbildung zeigt den Transferbehälter der Western Geräteeinheit.

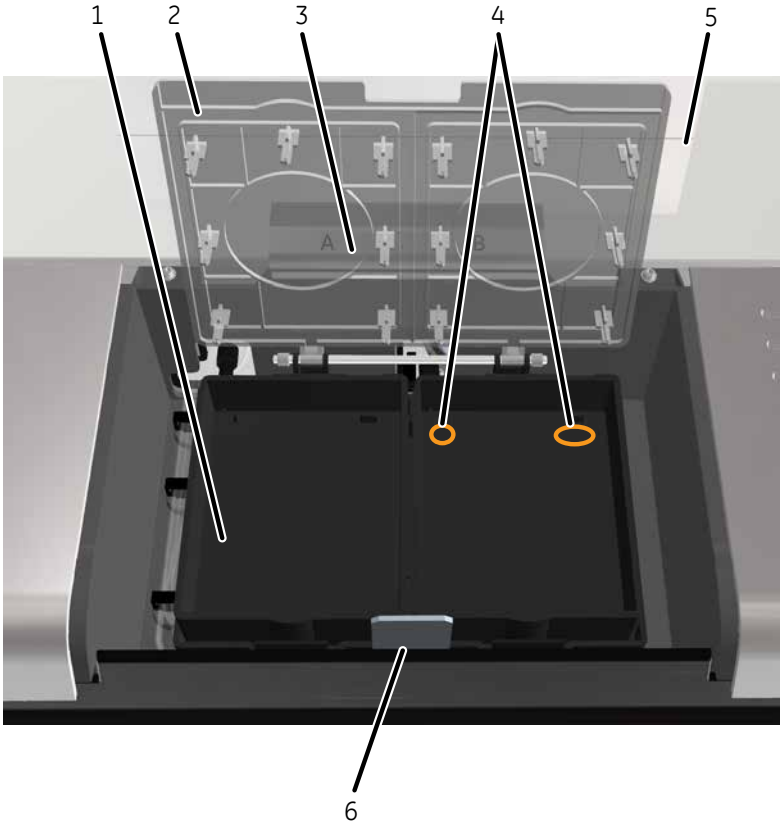



| Teil | Beschreibung |
|---|---|
| 1 | Sandwich-Führungsschienen |
| 2 | Anzeige von Position **A** und Position **B** |
| 3 | Rechte Transferelektrode |

| Teil | Beschreibung |
|---|---|
| 4 | Transferbehälterfilter |
| 5 | Linke Transferelektrode |

## Abbildung des Sondierungsfachs

Die nachstehende Abbildung zeigt das Sondierungsfach der Western Geräteeinheit.

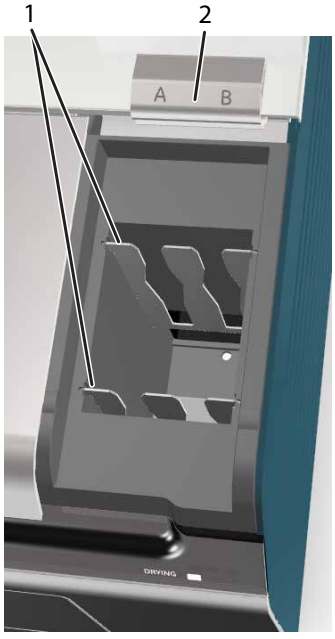



| Teil | Beschreibung |
|---|---|
| 1 | Sondierungskammer |
| 2 | Sondierungskammerdeckel |
| 3 | Anzeige von Position **A** und Position **B** |

| Teil | Beschreibung |
|---|---|
| 4 | Führungsstifte für die PVDF-Karte (durch orangefarbene Kreise gekennzeichnet) |
| 5 | Sondierungsfachdeckel |
| 6 | Klappe im Sondierungsfachdeckel |

## Abbildung des Trocknungsfachs

Die nachstehende Abbildung zeigt das Trocknungsfach der Western Geräteeinheit.

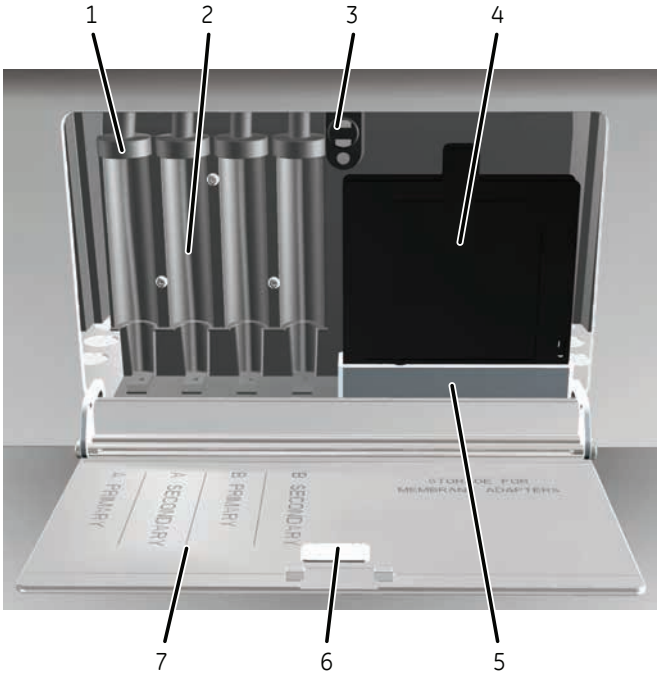



| Teil | Beschreibung |
|---|---|
| 1 | Membrantrocknerführungen |
| 2 | Positionsanzeiger **A** und Position **B** Standorte |

## Abbildung des Antikörperfachs

Die nachstehende Abbildung zeigt das Antikörperfach, in das vor der Sondierung Röhrchen mit 15 ml Antikörperlösung mit primären und sekundären Antikörpern eingesetzt werden (links). Weitere Informationen siehe *Anschließen der Röhrchen mit Antikörperlösung, auf Seite 175*.

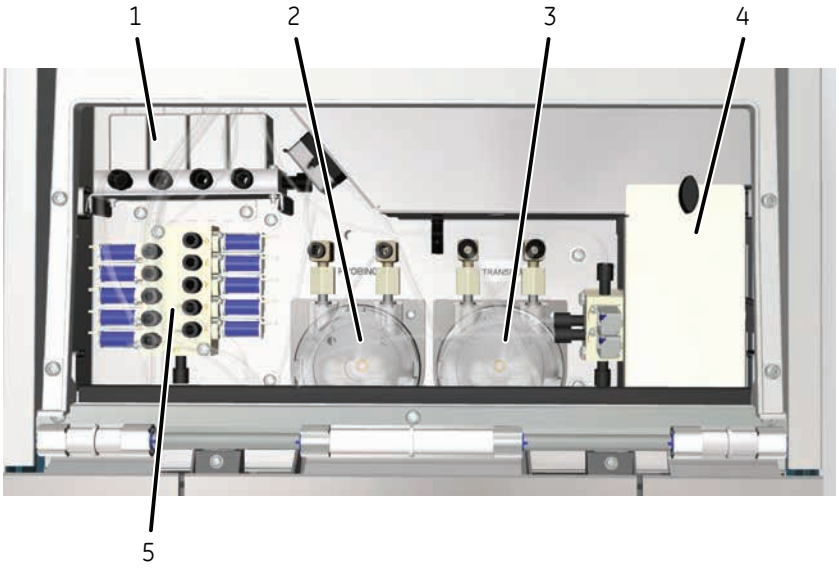
Die rechte Seite des Fachs wird für die Lagerung der Amersham WB membrane adapters (Membranadapter) genutzt.




| Teil | Beschreibung |
|---|---|
| 1 | Röhrchenhalter |
| 2 | Schlauch |
| 3 | Türschloss (magnetisch) |
| 4 | Membranadapter |
| 5 | Halterung für Membranadapter |
| 6 | Türschloss |
| 7 | Anzeige für die Position eines Röhrchens mit Antikörperlösung **A PRIMARY** (A primär), **A SECONDARY** (A sekundär), **B PRIMARY** (B primär) und **B SECONDARY** (B sekundär). |

## Abbildung des Wartungsfachs

Die nachstehende Abbildung zeigt das Wartungsfach der Western Geräteeinheit.




| Teil | Beschreibung |
|---|---|
| 1 | Transferventilblock |
| 2 | Sondierungspumpe |
| 3 | Transferpumpe |
| 4 | Deckel des Luftfilterfachs |
| 5 | Sondierungsventilblock |

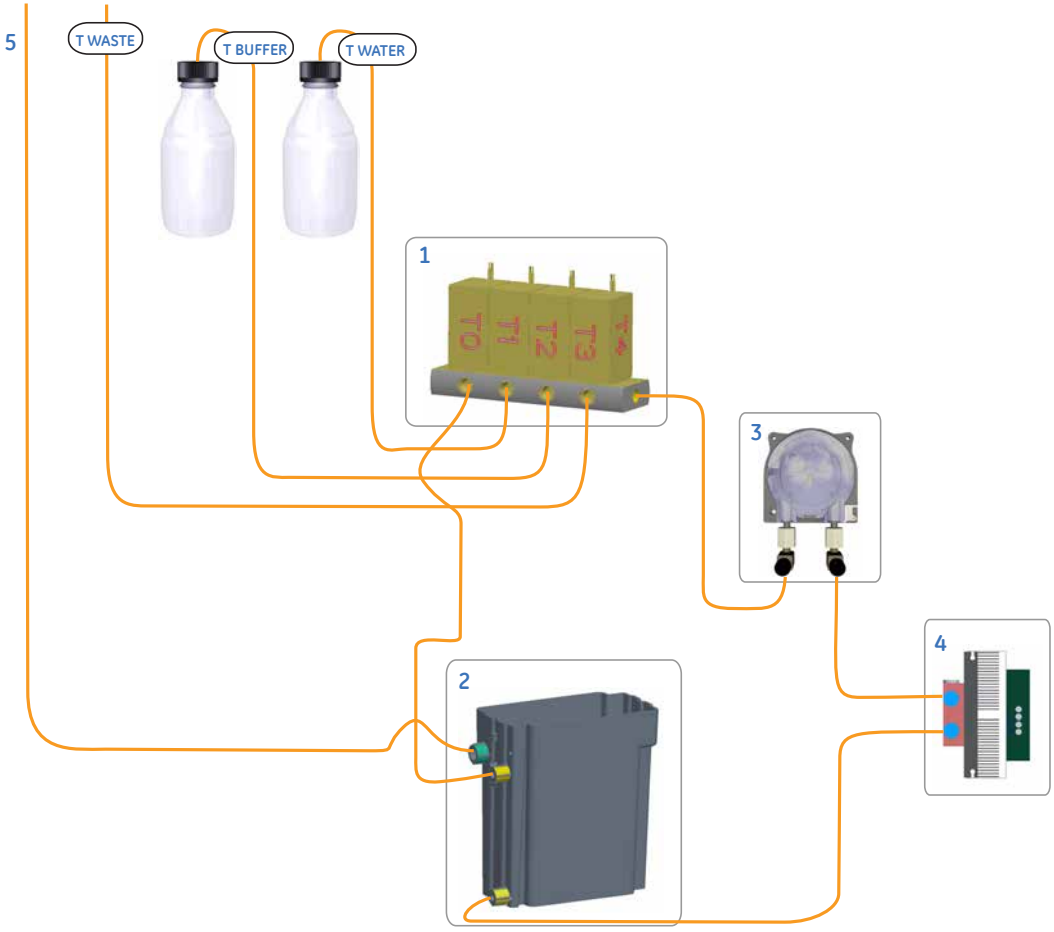
# 3.3.3 Flüssigkeitswege

## Einführung

Dieser Abschnitt zeigt die Flüssigkeitswege für Transfer und Sondierung in der Western Geräteeinheit und erläutert die Grundlagen des Betriebs.

## Abbildung des Flüssigkeitsweges für Transfer

Die nachstehende Abbildung zeigt ein detailliertes Flussdiagramm für den Transfervorgang. Das Flussdiagramm zeigt die gegenseitigen Verbindungen zwischen Gerätekomponenten. Die weißen Beschriftungen beziehen sich auf Schlauchbeschriftungen. Die blauen Zahlen beziehen sich auf Gerätekomponenten.




Die nachstehende Tabelle erläutert die Komponenten im Flussdiagramm:

| Teil | Beschreibung |
|---|---|
| 1 | Transferventilblock<br>Zur Auswahl der Lösung, die durch den Flüssigkeitsweg gepumpt werden soll. |

| Teil | Beschreibung |
|---|---|
| 2 | Transferbehälter |
| 3 | Transferpumpe<br>Zum Pumpen der Lösung durch den Flüssigkeitsweg. |
| 4 | Transferkühlaggregat<br>Zum Abkühlen des Transferpuffers zur Stabilisierung auf Raumtemperatur. |
| 5 | Transferbehälter-Überlauf |

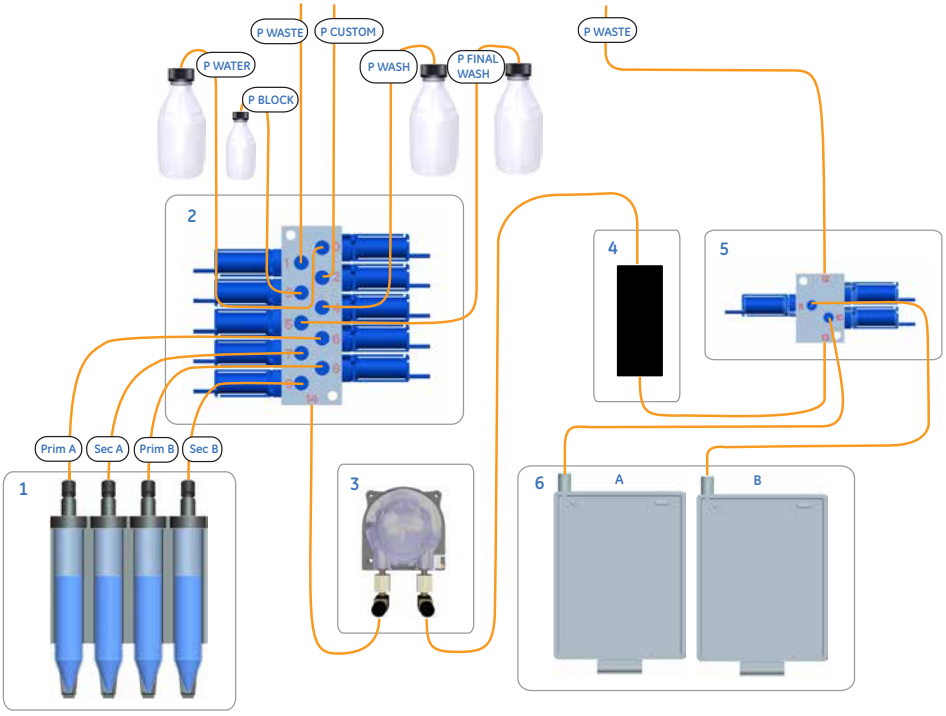
## Grundprinzip des Transfervorgangs

Bei dem Transfer wird ein elektrophoretischer Transfer der getrennten Proteine im Gel auf die Membran durchgeführt. Das Grundprinzip des Transfervorgangs wird nachstehend erläutert.

| Stufe | Beschreibung |
|---|---|
| 1 | Nachdem der Amersham WB transfer holder(s) (Transferhalter) in den Transferbehälter geladen wurde, wird der Transferbehälter mit Transferpuffer befüllt (der Schlauch mit der Kennzeichnung **T Buffer**). |
| 2 | Im Transferschritt wird der Transferpuffer durch den Transferbehälter, das Transferkühlaggregat, die Transferpumpe und den Transferventilblock gepumpt, sodass er während des Programmlaufs zirkuliert.<br>Das Transferkühlaggregat gewährleistet, dass der Transferpuffer während des Programmlaufs auf Raumtemperatur gehalten wird. |
| 3 | Nach einem Programmlauf und nach dem Entfernen der Transferhalter wird der Flüssigkeitsweg mit Reinstwasser gereinigt (der Schlauch mit der Kennzeichnung **T Water** wird zur Reinigung verwendet). |

## Abbildung des Flüssigkeitswegs für Sondierung

Die nachstehende Abbildung zeigt ein detailliertes Flussdiagramm für den Sondierungsvorgang. Das Flussdiagramm zeigt die gegenseitigen Verbindungen zwischen Gerätekomponenten. Die weißen Beschriftungen beziehen sich auf Schlauchbeschriftungen. Die blauen Zahlen beziehen sich auf Gerätekomponenten.




Die nachstehende Tabelle erläutert die Komponenten im Flussdiagramm:

| Teil | Beschreibung |
|---|---|
| 1 | Antikörperfach mit Röhrchen für Antikörperlösung, die primäre und sekundäre Antikörper für die Positionen **A** und **B** enthält. |
| 2 | Sondierungsventilblock<br>Zur Auswahl der Lösung, die durch den Flüssigkeitsweg gepumpt werden soll. |
| 3 | Sondierungspumpe<br>Zum Pumpen der Lösung durch den Flüssigkeitsweg. |

| Teil | Beschreibung |
|---|---|
| 4 | Luftsensor<br>Zum Nachweis, ob Luft im Schlauch vorhanden ist. Der Luftdetektor hält den Programmlauf an, wenn eine Flasche mit Lösung leer ist. |
| 5 | Wechselventil für die Sondierungskammer<br>Zur Auswahl, ob die Lösung zu den Sondierungskammern oder von den Sondierungskammern zum Ablauf. |
| 6 | Sondierungskammern |

## Grundprinzip des Sondierungsvorgangs

Bei der Sondierung werden primäre Antikörper an die Proteine auf der Membran gebunden. Danach werden sekundäre Antikörper, die zu einem CyDye konjugiert sind, an die primären Antikörper gebunden.

Das Grundprinzip des Sondierungsvorgangs wird nachstehend erläutert.

| Stufe | Beschreibung |
|---|---|
| 1 | Die Sondierungskammer wird gemäß dem Eintrag in das Sondierungsprotokoll der Software (als Standard wird Blockierungslösung verwendet) mit der ersten Lösung vorbefüllt.<br>Das Vorbefüllen der Sondierungskammer wird vom Benutzer durch Auswahl der entsprechenden Softwareanweisung gestartet. |
| 2 | Die PVDF-Karten werden in die Sondierungskammern eingesetzt und der Reihe nach werden Inkubationen (einschließlich Waschschritte) der Membran mit Blockierungslösung, primären Antikörpern und sekundären Antikörpern durchgeführt. |

# 3.4 Überblick über Zubehörteile und Verbrauchsmaterialien

## Einführung

Dieser Abschnitt liefert einen Überblick über die Zubehörteile und Verbrauchsmaterialien, die zusammen mit dem Amersham WB analyzer verwendet werden müssen. Außerdem enthält es Informationen zur Lagerung von Verbrauchsmaterialien und Informationen zur Bestellung von Verbrauchsmaterialien.

## Zubehörteile und Verbrauchsmaterialien

Die nachstehende Tabelle listet die Zubehörteile und Verbrauchsmaterialien, die mit dem Gerät verwendet werden müssen, in Bezug zum durchzuführenden Arbeitsschritt auf. Das Gerätezubehör wird zusammen mit dem System geliefert, während die Verbrauchsmaterialien separat bestellt werden.

Einzubauende Zubehörteile werden in *Abschnitt 4.2 Hardwareinstallation, auf Seite 97* beschrieben, Zubehörteile für Wartungsaufgaben, die der Benutzer ausführt, in *Wartungszubehör, auf Seite 207*.

Eine ausführliche Beschreibung der Zubehörteile und Verbrauchsmaterialien finden Sie in den nachfolgenden Abschnitten.

| Arbeitsschritt | Erforderliche Verbrauchsmaterialien | Erforderliche Zubehörteile | Informationen hierzu siehe... |
|---|---|---|---|
| Prelabeling von Proben | • Amersham WB Cy5<br>• Amersham WB labeling buffer (Markierungspuffer)<br>• Amersham WB loading buffer (Ladepuffer)<br>• Amersham WB MiniTrap™ kit (optional) | N/Z | Abschnitt 3.5 |

| Arbeitsschritt | Erforderliche Verbrauchsmaterialien | Erforderliche Zubehörteile | Informationen hierzu siehe... |
|---|---|---|---|
| Electrophorese-Lauf | • Amersham WB molecular weight markers (Molekulargewichtsmarker)<br>• Amersham WB gel card (Gelkarte)<br>• Amersham WB buffer strip (Pufferstreifen)<br>• Amersham WB loading buffer<br>• Amersham WB paper comb (optional) (Papierkamm) | Amersham WB buffer strip holder [1] (Pufferstreifenhalter) | Abschnitt 3.6 |
| *Western Blot-Schritte* | | | |
| Transfer | • Amersham WB gel card aus dem Elektrophorese-Lauf<br>• Amersham WB PVDF card (PVDF-Karte)<br>• Amersham WB transfer paper (Transferpapier)<br>• Amersham WB sponge (Schwamm)<br>• Im Labor zubereitete Transferlösungen (Rezepturen siehe *Rezepturen für Transferlösungen, auf Seite 149*) | Amersham WB transfer holder[1] (Transferhalter) | Abschnitt 3.7.1 |
| Sondierung | • Im Labor zubereitete Lösungen mit primären Antikörpern<br>• Sekundärer Antikörper:<br>Amersham WB goat anti-mouse Cy3/Cy5<br>(Ziege Anti-Maus Cy3/Cy5) oder<br>Amersham WB goat anti-rabbit Cy3/Cy5<br>(Ziege Anti-Kaninchen Cy3/Cy5)<br>• PVDF-Karte aus dem Transfer-Schritt<br>• Im Labor zubereitete Sondierungslösungen (Rezepturen siehe *Rezepturen für Sondierungs- und Antikörperlösungen, auf Seite 174*) | Röhrchen mit Antikörperlösung[1] | Abschnitt 3.7.2 |

| Arbeitsschritt | Erforderliche Verbrauchsmaterialien | Erforderliche Zubehörteile | Informationen hierzu siehe... |
|---|---|---|---|
| Trocknung | PVDF-Karte aus dem Sondierungsschritt | Amersham WB drying holder (Trocknungshalter) | N/Z |
| Scannen der PVDF-Karte in der Elpho & scan Geräteeinheit | PVDF-Karte aus dem Trocknungsschritt | Amersham WB membrane adapter[1] (Membranadapter) | Abschnitt 3.7.4 |
| *Sonstiges* | | | |
| Scannen von Datenmatrix-Tags auf Gelkarten und PVDF Karteneinzelpackungen (optional) | N/Z | Matrixmarkierungsleser (separat bestellen) | Abschnitt 3.8 |

1 Enthalten im Lieferumfang des Amersham WB analyzer.

## Bestellen von Verbrauchsmaterialien

Je nach den durchzuführenden Experimenten werden verschiedene Kombinationen von Verbrauchsmaterialien benötigt. Ein Auswahlleitfaden für das Zusammensetzen eines Satzes von Verbrauchsmaterialien steht unter www.gelifesciences.com zur Verfügung.

Bestellinformationen für separate Verbrauchsmaterialien finden Sie im *Amersham WB system User Manual*.

## Lagerung von Verbrauchsmaterialien

Die nachstehende Tabelle fasst die Lagerungs- und Umweltbedingungen für die verschiedenen Verbrauchsmaterialien zusammen. Das Ablaufdatum der Verbrauchsmaterialien ist auf der Packung aufgedruckt.

| Verbrauchsmaterial | Lagerungstemperatur | Umgebung |
|---|---|---|
| Prelabeling-Verbrauchsmaterialien | -15 °C bis -30 °C | Inhalt von direkter Sonneneinstrahlung schützen. Vermeiden Sie wiederholtes Einfrieren und Auftauen des Cy5 Farbstoff-Reagenz.<br>Gelöstes Cy5-Farbreagens sollte innerhalb von 30 Min. verwendet werden und darf nicht eingefroren werden. |
| Amersham WB molecular weight markers | -15 °C bis -30 °C | Schützen Sie die Molekulargewicht (MW)-Marker vor direkter Sonneneinstrahlung. Die MW-Marker müssen stets im Gefrierfach gelagert werden. Halten Sie die Zeit bei Raumtemperatur vor der Verwendung so gering wie möglich und vermeiden Sie ein erneutes Einfrieren.<br>MW-Marker, die in Ladepuffer mit DTT verdünnt werden, können in Aliquoten für eine einmalige Verwendung dosiert werden, wenn sie direkt nach der Verdünnung eingefroren werden. Die Aliquoten sollten nicht länger als eine Woche gelagert werden. |
| Amersham WB gel card | 4 °C bis 8 °C | Im Kühlschrank oder im Kühlraum lagern. |
| Amersham WB buffer strips | 4 °C bis 8 °C | Im Kühlschrank oder im Kühlraum lagern. |

| Verbrauchsmaterial | Lagerungstemperatur | Umgebung |
|---|---|---|
| Amersham WB PVDF card | Raumtemperatur | Bewahren Sie die PVDF Karte in der Einzelpackung in der Schachtel, in der diese geliefert werden, auf. Bewahren Sie die Schachtel an einem sauberen und trockenen Ort vor Licht geschützt auf. |
| Amersham WB transfer paper | Raumtemperatur | Die Transferpapierstücke trocken in dem Karton lagern, in dem sie geliefert wurden.<br>Vor Staub schützen. |
| Amersham WB paper comb | Raumtemperatur | Die Papierkämme trocken in dem Karton lagern, in dem sie geliefert wurden.<br>Vor Staub schützen. |
| Amersham WB sponge | Raumtemperatur | Vor Staub und direkter Sonneneinstrahlung schützen. |
| Amersham WB goat anti-mouse Cy3/Cy5 oder Amersham WB anti-rabbit Cy3/Cy5, lyophilisiert | 2 °C bis 8 °C | Sekundäre Antikörper vor Lichteinstrahlung schützen. |
| Rekonstituierte sekundäre Antikörper (rekonstituiert in Reinstwasser, auf eine Konzentration von 1 µg/µl) | Bewahren Sie die Aliquoten bei -15 °C bis -30 °C auf | Rekonstituierte sekundäre Antikörper vor Lichteinstrahlung schützen.<br>Die Aliquoten sollten nicht länger als 6 Monate gelagert werden. Vermeiden Sie wiederholtes Einfrieren und Auftauen. |
| Primäre Antikörper | Siehe Anweisungen des Herstellers. | Siehe Anweisungen des Herstellers. |

# 3.5 Prelabeling-Verbrauchsmaterialien

## Einführung

Die Prelabeling-Verbrauchsmaterialien werden für das Prelabeling von Proteinproben mit einem fluoreszierenden Farbstoff verwendet.

Fluoreszenz-Prelabeling von Proben:

- ermöglicht den Gesamtprotein-Nachweis beim Scannen der Gelkarte,
- beseitigt die Notwendigkeit zur Nachfärbung des Gels.

## Wann soll das Prelabeling von Proteinen eingesetzt werden?

Das Prelabeling von Proteinen wird bei folgenden Experimenten stets vor dem Elektrophorese-Schritt durchgeführt:

- Elektrophorese-Experimente,
- Western Experimente mit Gesamtprotein-Normalisierung.

## Prelabeling-Verbrauchsmaterialien

Vormarkierte Verbrauchsmaterialien werden in separaten Folienbeuteln verpackt. Jeder Folienbeutel enthält Lösungsreagenzien, die zum Lauf von 10-Gelkarten ausreichen (wobei 14 Streifen/Gelkarte mit vormarkierten Proben geladen werden), das heißt 140 individuelle Markierungsreaktionen.

Die nachstehende Tabelle fasst den Inhalt der Prelabeling-Verbrauchsmaterialien zusammen.

| Prelabeling-Verbrauchsmaterial | Inhalt | Menge |
|---|---|---|
| Amersham WB Cy5 | 0,25 mg/ml (etwa 250 pmol/µl) Cy5-Farbstoff in DMSO | 5 Fläschchen (blaue Kappe)<br>35 µl Cy5 Farbstofflösung pro Ampulle (genug für zwei Gelkarten) |
| Amersham WB labeling buffer (Markierungspuffer) | SDS-haltiger tris-basierter Puffer mit pH-Wert 8,7 (bei 25 °C) | 5 Fläschchen (schwarze Kappe)<br>0,7 ml Markierungs-Pufferlösung pro Ampulle (ausreichend für zwei Gelkarten) |

| Prelabeling-Verbrauchsmaterial | Inhalt | Menge |
|---|---|---|
| Amersham WB loading buffer (Ladepuffer) | 50 mM Tris-Cl, 0,25 % (w/v) Orange G, 4 % SDS, 0,5 mM Lysin | 5 Fläschchen (orangefarbene Kappe)<br>0,7 ml Lade-Pufferlösung pro Ampulle (ausreichend für zwei Gelkarten) |

## Probenvorbereitung Verbrauchsmaterial

Die folgende Tabelle beschreibt die Amersham WB MiniTrap kit.

| Probenvorbereitung Verbrauchsmaterial | Funktion | Menge |
|---|---|---|
| Amersham WB MiniTrap kit | Das Kit ist für eine schnelle und bequeme Reinigung von Proteinproben konzipiert (>5000 $M_r$) die Störsubstanzen, z. B. Imidazol, enthalten. | • 30 abgepackte PD MiniTrap G-25 Säulen (Einwegartikel), die Sephadex™ G-25 Medium enthalten<br>• 1 Flache mit 10× Amersham WB labeling buffer (14 ml Stammlösung)<br>• Integrierte Stativsäule, Abfallbehälter und Röhrenhalter |

# 3.6 Zubehörteile und Verbrauchsmaterialien für die Elektrophorese

## Einführung

Für die Proteinelektrophorese werden die folgenden Zubehörteile und Verbrauchsmaterialien benötigt:

- Amersham WB buffer strip
- Amersham WB buffer strip holder
- Amersham WB molecular weight markers
- Amersham WB gel card
- Amersham WB paper comb, wenn die Reinigung des Probenbetts vorgenommen wird
- Amersham WB loading buffer (für Informationen über den Ladepuffer siehe *Abschnitt 3.5 Prelabeling-Verbrauchsmaterialien, auf Seite 65*)

## In diesem Abschnitt

Dieser Abschnitt enthält die folgenden Unterabschnitte:


| Abschnitt | Siehe Seite |
|---|---|
| 3.6.1 Amersham WB molecular weight markers | 68 |
| 3.6.2 Amersham WB gel card | 71 |
| 3.6.3 Amersham WB buffer strip und Amersham WB buffer strip holder | 74 |
| 3.6.4 Amersham WB paper comb | 76 |

# 3.6.1 Amersham WB molecular weight markers

## Einführung

Amersham WB molecular weight markers sind ein Gemisch von neun nativen und rekombinanten Proteinen, $M_r$: 10 000 bis 225 000, markiert sowohl mit Cy3 als auch mit Cy5, für die Bestimmung des Molekulargewichts von Proteinen auf gescannten Gelkarten und PVDF-Karten.

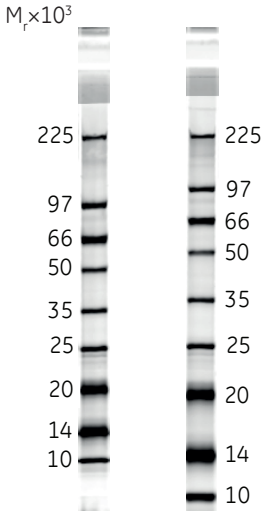
Die Software berechten Kalibrierungskurven für das Molekulargewicht. Bei Verwendung von zwei Kalibrierungskurven für das Molekulargewicht werden interpolierte Daten aus den Kurven verwendet, um probenbahnspezifische Kalibrierungskurven zu erstellen. Danach werden die Molekulargewichte für alle nachgewiesenen Bänder in den einzelnen Bahnen berechnet.

## Inhalt

Jede Packung Amersham WB molecular weight markers enthält eine Lösung für den Lauf von 10 Gelkarten (wo 2 Streifen/Gelkarte mit Amersham WB molecular weight markers geladen werden).

## Abbildung von Molekulargewichtsmarkern

Die nachstehende Abbildung zeigt die Größe der Amersham WB molecular weight markers, die auf einer Gradienten-Gelkarte (Bild links) und auf einer homogenen Gelkarte (Bild rechts) getrennt wurden:




## Proteine für Molekulargewichtsmarker

Die nachstehende Tabelle führt die einbezogenen Proteine auf:

| Protein | Molekulargewicht ($M_r \times 10^3$) |
|---|---|
| Rekombinantes Protein | 225 |
| Phosphorylase B, Kaninchenmuskel | 97 |
| Albumin, Rinderserum | 66 |
| Rekombinantes Protein | 50 |
| Rekombinantes Protein | 35 |
| Rekombinantes Protein | 25 |
| Trypsin-Inhibitor, Sojabohne | 20 |
| Alpha-Lactalbumin, Kuhmilch | 14 |

| Protein | Molekulargewicht ($M_r \times 10^3$) |
|---|---|
| Rekombinantes Protein | 10 |

# 3.6.2 Amersham WB gel card

## Einführung

In diesem Abschnitt werden Details der Gelkarten beschrieben.

## Gelkartentypen

Es gibt zwei Typen von Gelkarten:

- Homogene Gelkarte: Amersham WB gel card 14, 13.5%
- Gradienten-Gelkarte: Amersham WB gel card 14, 8-18%

## Gelzusammensetzung

Die Gele in der Gelkartenkassette sind gebrauchsfertig. Bei den Gelen handelt es sich um Polyacrylamid/Bisacrylamid-Gele mit einem Tris-Acetat-Puffer.

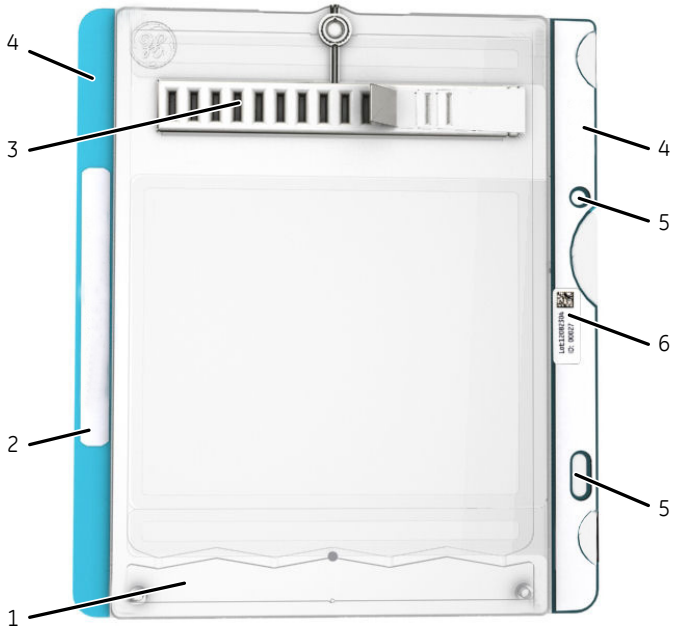
## Auflösung der Proteintrennung

In der nachstehenden Tabelle ist die Auflösung der Proteintrennung für die einzelnen Gelkartentypen aufgeführt:

| Gelkartentyp | Trennungsauflösung, $M_r \times 10^3$ |
|---|---|
| Amersham WB gel card 14, 13.5%, Homogen | 10 bis 225 |
| Amersham WB gel card 14, 8-18%, Gradientenbasiert | • 6 bis 225 (vormarkierte Proteine)<br>• 3,.5 bis 225 (Western Experimente, Antikörpernachweis) |

## Abbildung der Vorderseite einer Gelkarte

Die nachstehende Abbildung zeigt die Gelkarte mit der Vorderseite nach oben weisend:




| Teil | Beschreibung |
|---|---|
| 1 | Schreibfläche für eigenen Vermerk<br>***Anmerkung:***<br>*Beim Verfassen des Vermerks stets einen Bleistift verwenden.*<br>Der Vermerk kann auch in der Software eingegeben werden. |
| 2 | Etikett mit Gelkartentyp |
| 3 | Probenbettabdeckung<br>die abgenommen werden muss, wenn der Dichtungsdeckel in der Elpho & scan Geräteeinheit vor dem Aufbringen der Proben geschlossen wurde. |
| 4 | Gelgriffe<br>zur einfachen Handhabung des Gels nach Entfernung von seinem Träger für Western Blotting. |

| Teil | Beschreibung |
|---|---|
| 5 | Führungslöcher<br>für die richtige Platzierung der Gelkarten im Elpho & scan Lader und dem Transferhalter. |
| 6 | Etikett mit Daten-Matrixmarkierung, Chargennummer und ID |

## Abbildung der Rückseite einer Gelkarte

Die nachstehende Abbildung zeigt die Gelkarte mit der Rückseite nach oben weisend:

| Teil | Beschreibung |
|---|---|
| 1 | Schutzfilme<br>die vor der Elektrophorese entfernt werden, um einen Kontakt zwischen den Gel- und Pufferstreifen zu ermöglichen. |
| 2 | Schutzfilm<br>der entfernt wird, wenn das Transfer-Sandwich vorbereitet wird (nur bei Western Experimenten relevant). |

# 3.6.3 Amersham WB buffer strip und Amersham WB buffer strip holder

## Einführung

Die Pufferstreifen werden während eines Elektrophoreselaufs von den Pufferstreifenhaltern in ihrer Position gehalten. Die Pufferstreifenhalter besitzen integrierte Elektroden, die durch den Kontakt zwischen der Elektrode und dem Pufferstreifen einen elektrischen Strom für den Programmlauf liefern.

Die Pufferstreifen werden vor dem Starten eines Programmlaufs in die Halter geladen und nach dem Programmlauf entsorgt. Die Form der Halter leitet den Benutzer bei der Platzierung der Pufferstreifen in den Haltern und bei der Platzierung der Halter in der Elpho & scan Geräteeinheit.

Für weitere Informationen siehe *Vorbereitungen vor dem Start der Elektrophorese, auf Seite 135*.

## In den Pufferstreifen verwendeter Puffer

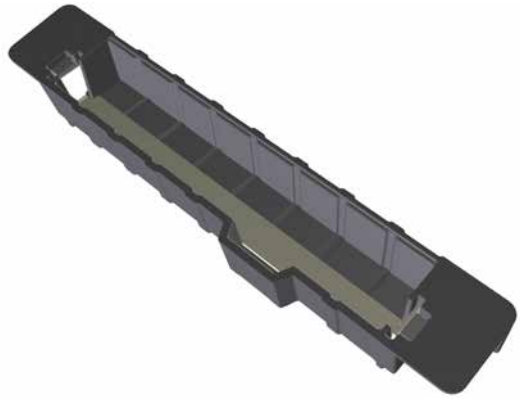
Bei dem in den Pufferstreifen verwendeten Puffer handelt es sich um Tris-Tricin.

## Abbildung der Pufferstreifen

Die nachstehende Abbildung zeigt einen Pufferstreifen.

## Abbildung der Pufferstreifenhalter

Die nachstehende Abbildung zeigt einen Pufferstreifenhalter.



# 3.6.4 Amersham WB paper comb

## Einführung

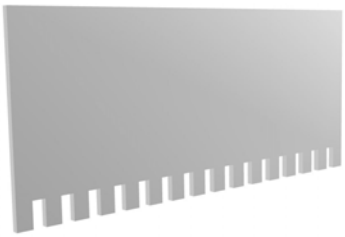
Der Papierkamm wird verwendet, um die Probenvertiefungen zu reinigen, wenn Proteine für ein paar Minuten in das Gel migriert sind. Eine Reinigung der Probenvertiefung wird empfohlen, um überschüssige Farbe zu entfernen, wenn vormarkierte Proben verwendet werden. Dies reduziert den Hintergrund, was die Detektion und Quantifizierung von schwächeren Proteinen (<1 ng/Band) und niedermolekularen Proteinen ($M_r$<40 000) verbessert.

Eine Reinigung der Probenvertiefung verbessert im Allgemeinen die Bandauflösung, auch für nichtmarkierte Proben mit hohen Proteinkonzentrationen oder große Probenvolumina.

Weitere Informationen zur Verwendung des Papierkamms finden Sie unter *Starten und Überwachen von Elektrophorese und Gel-Scan, auf Seite 143*.

## Abbildung des Papierkamms

Die nachstehende Abbildung zeigt einen Papierkamm.



# 3.7 Zubehörteile und Verbrauchsmaterialien für Western-Blot-Schritte

## Einführung

In diesem Abschnitt werden die Zubehörteile und Verbrauchsmaterialien beschrieben, die für den Transfer von Proteinen vom Gel auf die Membran, die Sondierung der Membran mit primären und sekundären Antikörpern und das Scannen von PVDF-Karten verwendet werden.

## In diesem Abschnitt

Dieser Abschnitt enthält die folgenden Unterabschnitte:


| Abschnitt | Siehe Seite |
|---|---|
| 3.7.1 Zubehörteile und Verbrauchsmaterialien für den Transfer | 78 |
| 3.7.2 Sekundäre Antikörper - Sondierung | 83 |
| 3.7.3 Trocknungshalter – PVDF Kartentrocknung | 85 |
| 3.7.4 Membranadapter – PVDF Kartenscan | 86 |

# 3.7.1 Zubehörteile und Verbrauchsmaterialien für den Transfer

## Einführung

Dieser Abschnitt beschreibt:

- Amersham WB transfer holder (Zubehör)
- Amersham WB PVDF card (Verbrauchsmaterial)
- Amersham WB transfer paper (Verbrauchsmaterial)
- Amersham WB sponge (Verbrauchsmaterial)

## Amersham WB transfer holder

Der Transferhalter wird beim Transfer verwendet. Er enthält das Transfer-Sandwich (Schwamm, Transferpapier, Gelkarte, PVDF-Karte, Transferpapier und Schwamm), das vor dem Start des Transfers vorbereitet wird. Die getrennten Proteine werden während des Transferlaufs vom Gel auf die Membran transferiert.

Führungsstifte im Transferhalter gewährleisten, dass die Gelkarte und die PVDF-Karte bei der Vorbereitung des Transfer-Sandwiches richtig positioniert sind.

Durch Verwendung des eingebauten Rollers (bei Bewegung des Rollers in den Rollerschienen über das Sandwich) werden Luftbläschen entfernt und ein reproduzierbarer Druck wird auf die Gelkarte und die PVDF-Karte ausgeübt, um einen gleichmäßigen Transfervorgang zu erreichen.

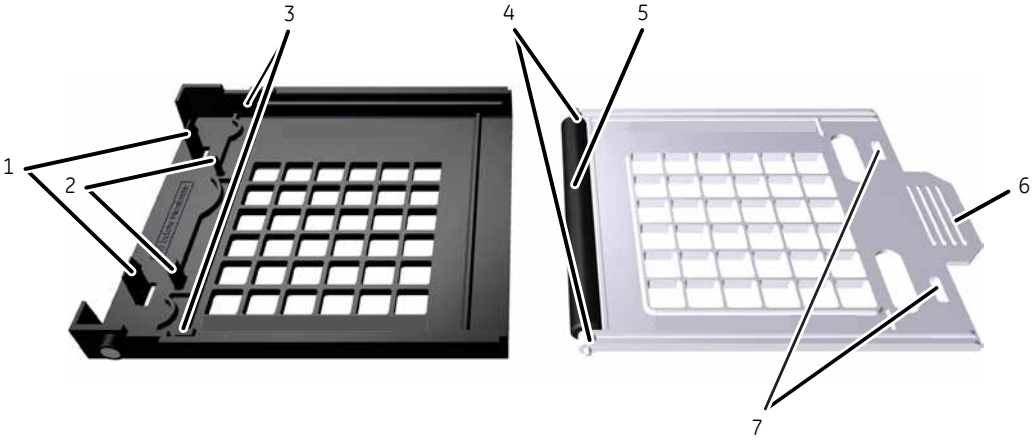
Weitere Informationen zur Vorbereitung des Transfer-Sandwiches finden Sie unter *Mit der Bildung des Transfer-Sandwiches beginnen, auf Seite 158*.

## Abbildung des geschlossenen Transferhalters

Das nachstehende Bild zeigt den Transferhalter im geschlossenen Zustand:

## Abbildung des zerlegten Transferhalters

Das nachstehende Bild zeigt den Transferhalter im zerlegten Zustand.




In der nachstehenden Tabelle werden die verschiedenen Teile des Transferhalters beschrieben.

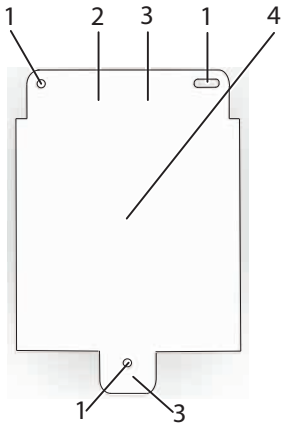
| Teil | Funktion |
|---|---|
| Unterteil (schwarzer Deckel) | |

| Teil | Funktion |
|---|---|
| 1 | Riegel |
| 2 | Führungsstifte für Gelkarte und PVDF-Karte |
| 3 | Rollerschienen (für Rollerstifte) |
| Oberteil (weißer Deckel) | |
| 4 | Rollerstifte (in Rollerschienen einpassen, um die Deckel zusammenzufügen) |
| 5 | Roller |
| 6 | Griff |
| 7 | Öffnungen für die Riegel |

## Amersham WB PVDF card

Im Transferschritt werden Proteine aus dem Gel auf den Blotting-Bereich der PVDF-Karte übertragen. Die PVDF Karte ist eine PVDF Membran mit geringer Fluoreszenz.

Die folgende Abbildung zeigt die verschiedenen Teile der PVDF Karte und die Einzelpackung der PDVF Karte.



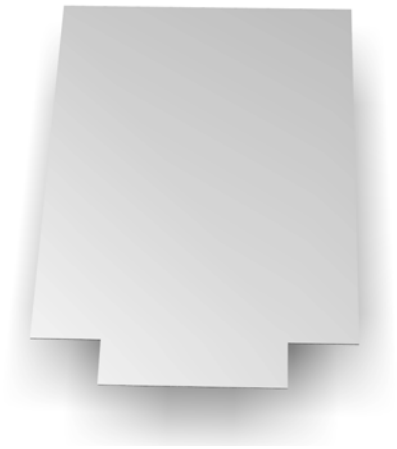
Die folgende Tabelle beschreibt die verschiedenen Teile der der PVDF Karte und PDVF die Einzelpackung der PDVF Karte.

| Teil | Beschreibung |
|---|---|
| 1 | Führungslöcher<br>***Anmerkung:***<br>*Die Führungslöcher unterstützen die richtige Platzierung der Karte im Transferhalter, die Sondierungskammer, den Trocknungshalter und das Elpho & scan Lademodul.* |
| 2 | Schreibfläche für eigenen Vermerk<br>***Anmerkung:***<br>*Beim Verfassen des Vermerks stets einen Bleistift verwenden.*<br>Der Vermerk kann auch in der Software eingegeben werden. |
| 3 | Kartengriffe |
| 4 | Blotting-Bereich |
| 5 | PDVF Karten-Einzelpackung |
| 6 | PDVF Karte mit Schutzpapieren |
| 7 | Kennzeichnung mit Produktcode, Chargennummer, Kennnummer und Datenmatrix-Tag (enthält Produktcode, Chargennummer und Kennnummer) |

## Amersham WB transfer paper

Die Transferpapierstücke werden bei der Vorbereitung des Transfer-Sandwiches verwendet.

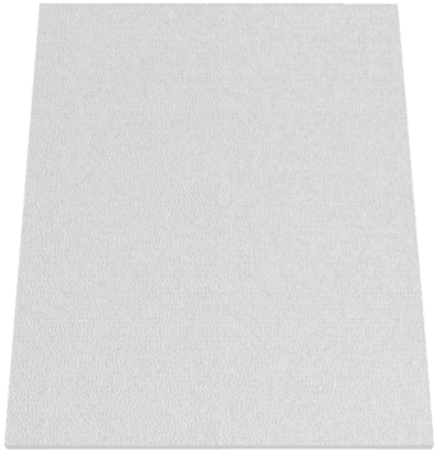
Die nachstehende Abbildung zeigt ein Transferpapier:



## Amersham WB sponge

Bei der Vorbereitung des Transfer-Sandwiches werden zwei Schwämme verwendet. Die Schwämme müssen nach jedem Programmlauf ersetzt werden werden.

Die nachstehende Abbildung zeigt einen Schwamm.



# 3.7.2 Sekundäre Antikörper - Sondierung

## Einführung

Die Zielproteine werden identifiziert, indem die Membran mit primären Antikörpern und artspezifischen sekundären CyDye-konjugierten Antikörpern sondiert wird. Durch Verwendung von zwei unterschiedlichen Arten von primären Antikörpern (Maus und Kaninchen), einem Cy3-konjugierten sekundären Antikörper und einem Cy5-konjugierten sekundären Antikörper kann ein Multiplex-Experiment durchgeführt werden, bei dem zwei Proteine gleichzeitig auf derselben Membran nachgewiesen werden können.

Die folgenden Varianten von CyDye-konjugierten sekundären Antikörpern stehen zur Verfügung:

- Amersham WB goat anti-mouse Cy3 (Ziege Anti-Maus Cy3)
- Amersham WB goat anti-rabbit Cy3 (Ziege Anti-Kaninchen Cy3)
- Amersham WB goat anti-mouse Cy5 (Ziege Anti-Maus Cy5)
- Amersham WB goat anti-rabbit Cy5 (Ziege Anti-Kaninchen Cy5)

## CyDye (konjugiert zu den sekundären Antikörpern)

Die zu den sekundären Antikörpern konjugierten CyDyes besitzen eigene Anregungs- und Emissionswellenlängen im sichtbaren Lichtspektrum und unterscheiden sich spektral voneinander, was zu minimalen Wechselwirkungen führt (siehe Tabelle unten).

| CyDye | Anregungswellenlänge | Emissionswellenlänge |
|---|---|---|
| Cy3 | 550 nm | 570 nm |
| Cy5 | 649 nm | 670 nm |

Nach der Anregung werden die resultierenden Emissions-Fluoreszenssignale mithilfe des Mehrkanal-Fluoreszenzscanners in der Elpho & scan Geräteeinheit erfasst.

Die CyDyes besitzen eine hohe Photostabilität. Das Signal auf einer sondierten Membran ist bei Lagerung im Dunklen für mehr als 3 Monate stabil.

## Zubereitung und Lagerung von rekonstituierten sekundären Antikörpern

Rekonstituieren Sie die sekundären Antikörper in 150 µl Reinstwasser pro Ampulle, bis zu einer Konzentration von 1 µg/µl. Die rekonstituierten sekundären Antikörper werden mit dem Vortexschüttler gut gemischt und herunterzentrifugiert.

Es wird empfohlen, die sekundären Antikörper in Aliquoten bei -15 °C bis -30 °C zu lagern und vor Licht zu schützen. Vermeiden Sie wiederholtes Einfrieren und Auftauen.

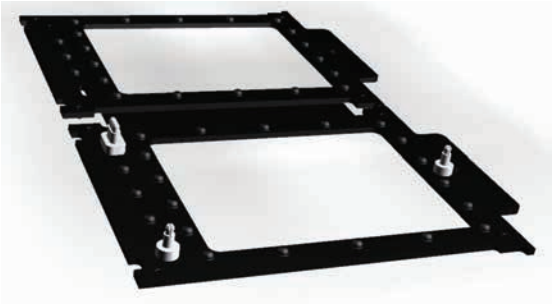
# 3.7.3 Trocknungshalter – PVDF Kartentrocknung

## Einführung

Der Amersham WB drying holder (Trocknungshalter) fixiert und richtet die PVDF Karte in der richtigen Position für bestmögliche Trocknungsergebnis aus.

## Abbildung des Trocknungshalters

Die Abbildungen unten zeigen den Trocknungshalter in geschlossenem (oben) und im geöffneten (unten) Zustand.



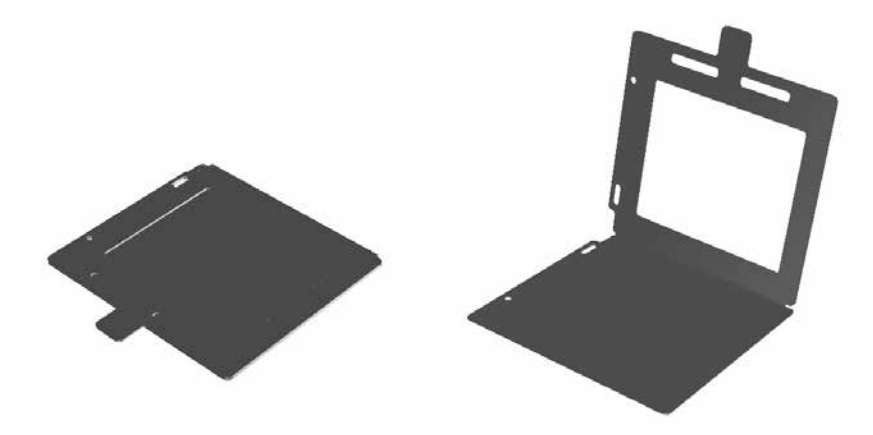
# 3.7.4 Membranadapter – PVDF Kartenscan

## Einführung

Der Amersham WB membrane adapter (Membranadapter) orientiert und fixiert die PVDF Karte in der richtigen Position für bestmögliches Scannen und Detektion in der Elpho & scan Einheit.

## Abbildung des Membranadapters

Die nachstehenden Abbildungen zeigen den Membranadapter im geschlossenen (links) und geöffneten (rechts) Zustand:



# 3.8 Sonstige Zubehörteile

## Matrixmarkierungsleser

Der Matrix-Tag-Reader wird verwendet, um die Gelkarte und die PVDF Karteninformationen (Produktcode, ID und Chargennummer) durch Scannen der Datenmatrix-Tags auf der Gelkarte und auf der PVDF Einzelpackungsmarkierung der Karte in die Software einzugeben. Er muss separat bestellt werden (siehe *Bestellinformationen* in Amersham WB system User Manual).

Die nachstehende Abbildung zeigt den Matrixmarkierungsleser.

## Einlassfilterhalterung

Die Einlassfilterhalterungen werden zusammen mit Einlassfiltern an den Einlassschläuchen angebracht, die in die Flaschen im Flaschengestell eingeführt sind. Partikel werden durch den Einlassfilter gefiltert. Der Einlassfilter selbst stellt ein Gewicht dar, das den Schlauch am Boden der Flaschen hält.

Die nachstehende Abbildung zeigt eine am Schlauch angebrachte Einlassfilterhalterung mit montiertem Einlassfilter.

## Schlauchhalter

Um Spannungen zu kompensieren, die auftreten, wenn Schläuche in Flaschen platziert werden, muss am Schlauch ein Schlauchhalter angebracht werden. Siehe Abbildung unten:

## Weitere Zubehörteile, die der Benutzer einbauen muss

Die Transferelektroden und Membrantrocknerführungen müssen vom Benutzer eingebaut werden.

Weitere Informationen siehe *Einbauen der Transferelektroden, auf Seite 100* und *Einbauen der Membrantrocknerführungen im Trocknerfach, auf Seite 108*.

## Zubehörteile für die Wartung durch den Benutzer

Eine Beschreibung der Zubehörteile für die Wartung durch den Benutzer finden Sie unter *Wartungszubehör, auf Seite 207*.

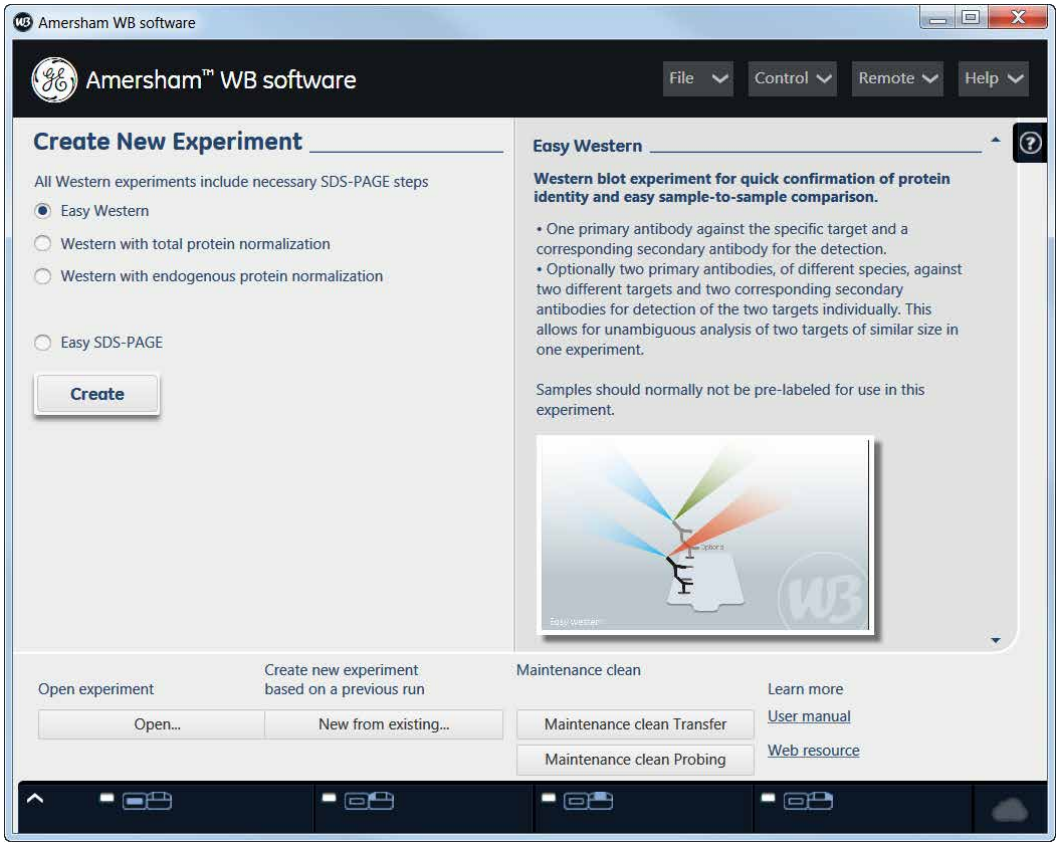
# 3.9 Überblick über die Software

## Einführung

Dieser Abschnitt liefert einen Überblick über die Amersham WB software.

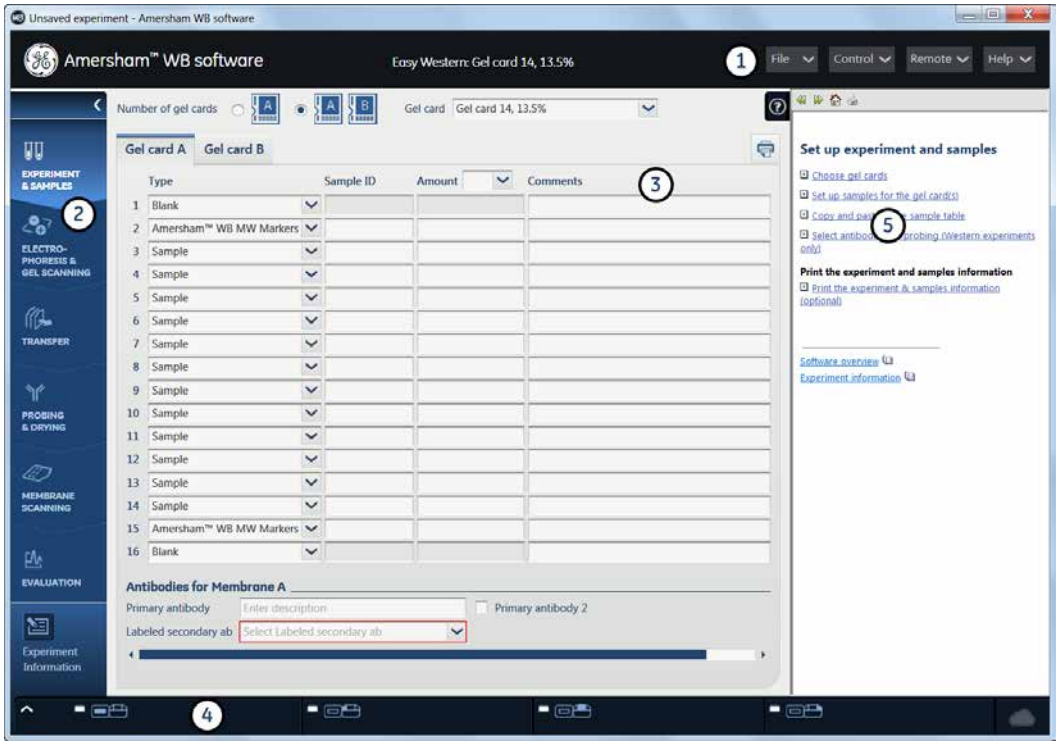
## Abbildung des Startbildschirms der Software

Im Startbildschirms der Software können neue Experimente erstellt und zuvor gespeicherte Experimente geöffnet werden. Informationen zum Erstellen/Einrichten eines Experiments finden Sie unter *Erstellen und Einrichten eines Experiments, auf Seite 125*.


Amersham WB software
Amersham™ WB software
File
Control
Remote
Help
Create New Experiment
All Western experiments include necessary SDS-PAGE steps
Easy Western
Western with total protein normalization
Western with endogenous protein normalization
Easy SDS-PAGE
Create
Easy Western
Western blot experiment for quick confirmation of protein identity and easy sample-to-sample comparison.
• One primary antibody against the specific target and a corresponding secondary antibody for the detection.
• Optionally two primary antibodies, of different species, against two different targets and two corresponding secondary antibodies for detection of the two targets individually. This allows for unambiguous analysis of two targets of similar size in one experiment.
Samples should normally not be pre-labeled for use in this experiment.
Open experiment
Open...
Create new experiment based on a previous run
New from existing...
Maintenance clean
Maintenance clean Transfer
Maintenance clean Probing
Learn more
User manual
Web resource

## Abbildung des Hauptbildschirms der Software

Die nachstehende Abbildung zeigt den Hauptbildschirm der Software für ein Western Experiment.



| Fläche | Beschreibung |
|---|---|
| 1 | ***Menüleiste***<br>Die Menüleiste enthält vier Menüs:<br>• ***File*** (Datei): Experimente erstellen, öffnen und speichern. Informationen drucken und die Software beenden.<br>• ***Control*** (Steuerung): Nach dem Programmlauf die Transfer- und Sondierungskammer leeren und die Reinigung der Strömungswege für Transfer und Sondierung starten.<br>• ***Remote***: Remote-Zugriff auf das Gerät verbinden und trennen. Zugriffscodes für das Gerät abrufen und Remote-Benutzer verwalten. Die Konfiguration der Remote-Verbindung bearbeiten.<br>***Anmerkung:***<br>*Nur dann sichtbar, wenn ein Gerät angeschlossen ist.*<br>• ***Help***: Erstellen von Systemberichten. Öffnen Sie das Hilfe-Panel, das Benutzerhandbuch und den ***About Amersham WB*** Dialog. |
| 2 | ***Workflow-Feld***<br>Das Workflow-Feld stellt die verschiedenen Arbeitsschritte für ein Experiments in der Software dar.<br>Es ist möglich, weiter und zurück zu gehen, um Informationen und Parameter in den verschiedenen Arbeitsschritten anzuzeigen und zu bearbeiten, bevor ein Programmlauf gestartet wird (d. h. Elektrophorese, Transfer, Sondierung, Trocknung oder Membranscan).<br>Es ist immer möglich, zurück zu gehen und in den verschiedenen Arbeitsschritten während und nach einem Programmlauf Text in Informationsfeldern zu bearbeiten. Die Probentabelle kann z. B. gefüllt werden, nachdem die Elektrophorese gestartet wurde.<br>***Anmerkung:***<br>*Für ein Elektrophorese-Experiment werden die Arbeitsschritte* ***TRANSFER***, ***PROBING &***<br>***DRYING*** *(Sondierung und Trocknung) und* ***MEMBRANE SCANNING*** *(Membranscan) abgeblendet. Diese Schritte werden nur in Western Experimente einbezogen.* |
| 3 | ***Arbeitsbereich***<br>Der Arbeitsbereich zeigt die Textinformationen, die Parameter und die Steuerelemente für den aktuell angezeigten Arbeitsschritt. |

| Fläche | Beschreibung |
|---|---|
| 4 | ***Gerätestatus-Feld***<br>Das Gerätestatus-Feld zeigt den Verbindungsstatus des Geräts. Wenn das Gerät angeschlossen ist, wird der Status jedes Hardwaremoduls (Elektrophorese- und Scankammer, Transferbehälter, Sondierungskammer und Trocknungskammer) und der Fortschritt jedes Programmlaufs in den Modulen angezeigt.<br>Es können mehrere Experimente gleichzeitig geöffnet werden. Für jedes Experiment ist eine neue Instanz der Software zu öffnen. Das Gerätestatus-Feld zeigt den Status des Geräts für alle geöffneten Experimente. Ein Hardwaremodul kann von jeweils einem Experiment verwendet werden. Das bedeutet, dass vier unterschiedliche Arbeitsschritte von vier verschiedenen Experimenten parallel ausgeführt werden können. |
| 5 | ***Hilfefeld***<br>Das Hilfefeld zeigt die Hilfeanweisungen für den aktuell im Arbeitsbereich angezeigten Bildschirm an. Wenn ein neuer Schritt im Workflow ausgewählt wird, werden die Hilfeanweisungen automatisch so aktualisiert, dass die Hilfe für den aktiven Bildschirm angezeigt wird.<br>***Tipp:***<br>*Um das Benutzerhandbuch mit ausführlichen Informationen über das System anzuzeigen, in der Menüleiste das Menüelement* ***Help:View user manual*** *(Hilfe:Benutzerhandbuch anzeigen) auswählen oder* ***Strg+F1*** *drücken.* |

# 4 Installation

## Zu diesem Kapitel

Dieses Kapitel beschreibt die Installation des Amersham WB system.

## In diesem Kapitel

Dieses Kapitel enthält die folgenden Abschnitte:


| Abschnitt | Siehe Seite |
|---|---|
| 4.1 Standortvorbereitung | 94 |
| 4.2 Hardwareinstallation | 97 |
| 4.3 Softwareinstallation | 111 |

# 4.1 Standortvorbereitung

## Warum muss der Standort präpariert werden?

Vor der Installation des Amersham WB system muss der Laborstandort geplant und vorbereitet werden. Die Leistungsspezifikationen des Systems können nur erfüllt werden, wenn die Laborumgebung die Anforderungen erfüllt, die in diesem Abschnitt aufgeführt sind. Stets alle örtlichen Sicherheitsvorschriften befolgen.

## Platzbedarf

**ACHTUNG**

Das Amersham WB analyzer in einem Raum mit Absauganlage aufstellen, wenn Methanol oder andere Chemikalien verwendet werden, für die eine Entlüftung erforderlich ist.

Die Geräteeinheiten dürfen keiner direkten Sonneneinstrahlung ausgesetzt werden. Staub in der Atmosphäre sollte auf einem Minimum gehalten werden.

In der nachstehenden Tabelle sind Grenzwerte für Temperatur- und Luftfeuchtigkeitsbereiche angegeben.

| Parameter | Zulässiger Bereich |
|---|---|
| Umgebungstemperatur, Betrieb | 15 °C bis 32 °C<br>Für optimale Leistung: 16 °C bis 28 °C |
| Umgebungstemperatur, Lagerung und Transport | -25° C bis +60° C |
| Relative Luftfeuchtigkeit, Betrieb | 20 % bis 80%, nicht kondensierend<br>Für optimale Leistung: 20 % bis 70%, nicht kondensierend |
| Höhe über dem Meeresspiegel | Maximal 2.000 m |
| Umgebung | Nur in Gebäuden |

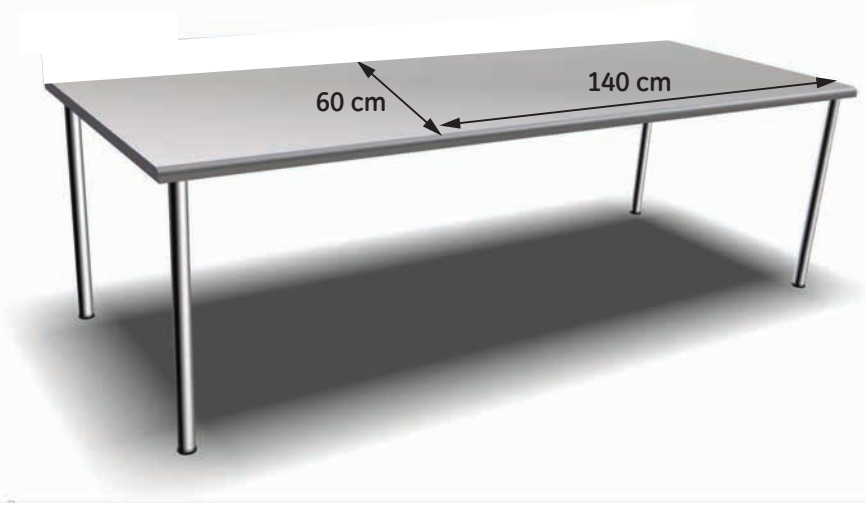
## Platzbedarf

**ACHTUNG**

Zugang zu Netzschalter und Netzkabel nicht versperren. Der Netzschalter muss stets gut zugänglich sein. Das Netzkabel mit Stecker muss stets schnell herausgezogen werden können.

Die Geräteeinheiten sollten auf einem Labortisch aufgestellt werden. Der Arbeitstisch muss sauber, flach, eben, stabil und in der Lage sein, das Gewicht des Amersham WB system zu tragen (Geräteeinheiten: 45 kg + Gewicht des Laptops und der Flüssigkeiten auf der Western Geräteeinheit).

Platzbedarf siehe unten. Hinter den Geräteeinheiten mindestens 10 cm Raum für die Belüftung lassen. Der Platzbedarf für die zwei Geräteeinheiten beträgt 90 cm. 140 cm Platz auf dem Arbeitstisch werden jedoch empfohlen, um Platz für die Reagenszubereitung, den Umgang mit den Gelkarten usw. zu ermöglichen.




## Strombedarf

Siehe *Abschnitt 7.1 Systemspezifikationen, auf Seite 221*.

## Anforderungen an den Computer

| Parameter | Daten |
|---|---|
| Betriebssystem | Windows 7 Professional, 32-bit or 64-bit, Englische Version |
| Webbrowser | Windows Internet Explorer 8 oder höher |
| Bildschirmauflösung | Auflösung von 1280 × 800 oder höher |
| Leistungs | Minimum: 2 GB physischer Speicher<br>Empfohlen: 4 GB physischer Speicher |

***Anmerkung:*** *Der Computer muss gemäß den Anweisungen und Spezifikationen des Computerherstellers installiert, aufgestellt und verwendet werden.*

# 4.2 Hardwareinstallation

## Entpacken des Amersham WB analyzer

Siehe *Amersham WB analyzer Anweisungen zum Entpacken.*

## Anheben der Geräteeinheiten auf den Arbeitstisch

**ACHTUNG**

Sicherstellen, dass das System auf einem stabilen flachen Arbeitstisch mit ausreichend Raum zur Belüftung aufgestellt wird.

**ACHTUNG**

Zugang zu Netzschalter und Netzkabel nicht versperren. Der Netzschalter muss stets gut zugänglich sein. Das Netzkabel mit Stecker muss stets schnell herausgezogen werden können.

**VORSICHT**

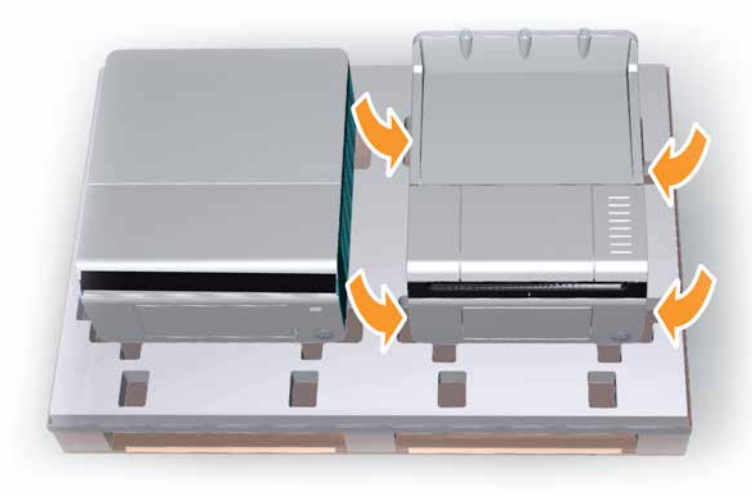
**Persönliche Schutzausrüstung (PSA).** Wenn das System verpackt, ausgepackt, transportiert bzw. umgestellt werden soll, muss die folgende Schutzausrüstung getragen werden:

- Sicherheitsschuhwerk, vorzugsweise mit Stahlauskleidung
- Arbeitshandschuhe, die Schutz gegen scharfe Kanten bieten
- Schutzbrille

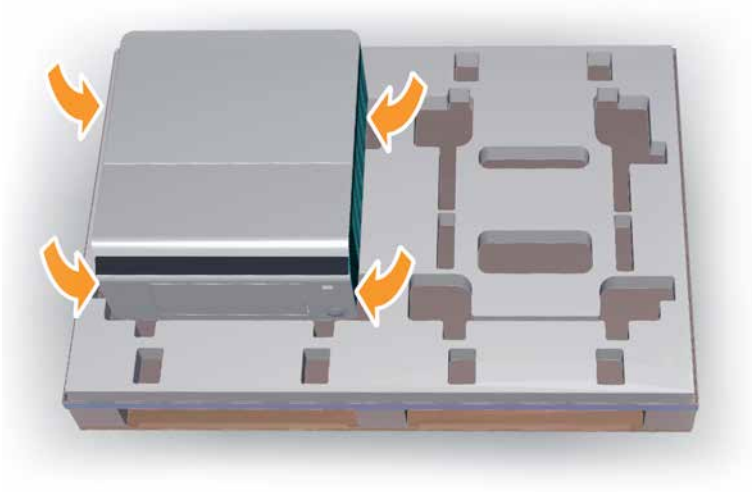
**VORSICHT**

**Schweres Objekt.** Zum sicheren Anheben der Geräteeinheiten sind zwei Personen erforderlich.

| Schritt | Maßnahme |
|---|---|
| 1 | Die Geräteeinheiten durch Nutzung des Hebebereichs neben den Einheiten mit der Hand anheben. Sicherstellen, dass die Geräteeinheiten auf einem stabilen flachen Arbeitstisch aufgestellt werden. |
| 2 | Die erste Geräteeinheit anheben. Unter und neben der Geräteeinheit in die Aushöhlungen im Schaumstoff greifen. Die Einheit auf einen Labortisch stellen. |



| | |
|---|---|
| 3 | Die andere Geräteeinheit anheben und auf einen Labortisch stellen. |



| Schritt | Maßnahme |
|---|---|
| 4 | Um eine gute Belüftung zu gewährleisten, muss die Elpho & scan Geräteeinheit links und die Western Geräteeinheit rechts aufgestellt werden. Hinter den Geräteeinheiten mindestens 10 cm Raum für die Belüftung lassen.<br>Zugang zu Netzschalter und Netzkabel nicht versperren. |
| 5 | Die Standfüße so einstellen, dass die Geräteeinheiten horizontal ausgerichtet sind. Dies ist besonders wichtig für die Western Geräteeinheit. |
| 6 | Wenn keine Beschränkung seitens des Herstellers besteht und es sich bei dem Computer um einen Laptop handelt, kann der Computer auf der Oberseite der Elpho & scan Geräteeinheit platziert werden. Siehe die Umweltspezifikationen für Computer.<br>Bei Verwendung eines Tischcomputers können Monitor und Tastatur auf der Oberseite der Elpho & scan Geräteeinheit platziert werden. Das Computersystem selbst darf nicht auf der Oberseite platziert werden.<br> |

## Entfernen des Transportschutzes der Elpho & scan Geräteeinheit

Um zerbrechliche Komponenten des Scanners in der Elpho & scan Geräteeinheit zu schützen, ist ein Transportschutz angebracht.

Vor dem Einschalten der Stromzufuhr den Transportschutz vorsichtig entfernen.

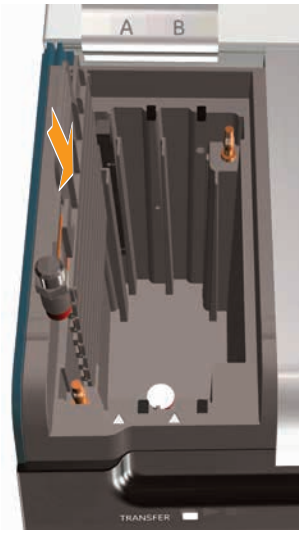
## Einbauen der Transferelektroden

**ACHTUNG**

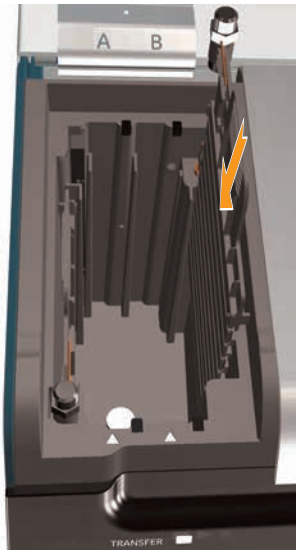
**Die Stromzufuhr trennen.** Bevor Teile am Gerät ausgetauscht werden, stets die Stromzufuhr zum Gerät trennen, wenn in der Benutzerdokumentation nicht anderweitig angegeben.

| Schritt | Maßnahme |
|---|---|
| 1 | Den Transferbehälterdeckel öffnen. |

| Schritt | Maßnahme |
|---|---|
| 2 | Die linke Transferelektrode ganz links in den Transferbehälter einsetzen und herunterdrücken. |




| | |
|---|---|
| 3 | Die rechte Transferelektrode ganz rechts in den Transferbehälter einsetzen und herunterdrücken. |




| | |
|---|---|
| 4 | Den Transferbehälterdeckel schließen. |

## Verbinden der Geräteeinheiten und des Computers und Anschließen der Netzkabel

**ACHTUNG**

**Schutzerdung und Netzkabel.**

Das Amersham WB analyzer muss stets an eine geerdete Steckdose angeschlossen werden.

Nur ein zugelassenes dreiadriges Netzkabel verwenden, das von GE geliefert oder zugelassen wurde oder mit allen geltenden örtlichen elektrotechnischen Anforderungen übereinstimmt.

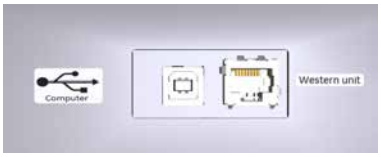
**ACHTUNG**

**Versorgungsspannung.** Vor dem Anschließen des Netzkabels sicherstellen, dass die Versorgungsspannung an der Wandsteckdose der Kennzeichnung am Gerät entspricht.

**HINWEIS**

Jeder zusammen mit dem Gerät verwendete Computer muss IEC/EN/UL/CSA 60950-1 oder andere Sicherheitsvorschriften erfüllen. Er sollte gemäß den Anweisungen des Herstellers installiert und verwendet werden.

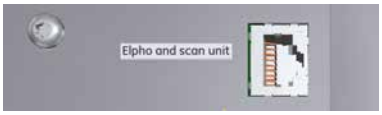
| Schritt | Maßnahme |
|---|---|
| 1 | Den Computer unter Verwendung des mitgelieferten USB-Kabels mit der Elpho & scan Geräteeinheit verbinden (Kontakt: **Computer**). |

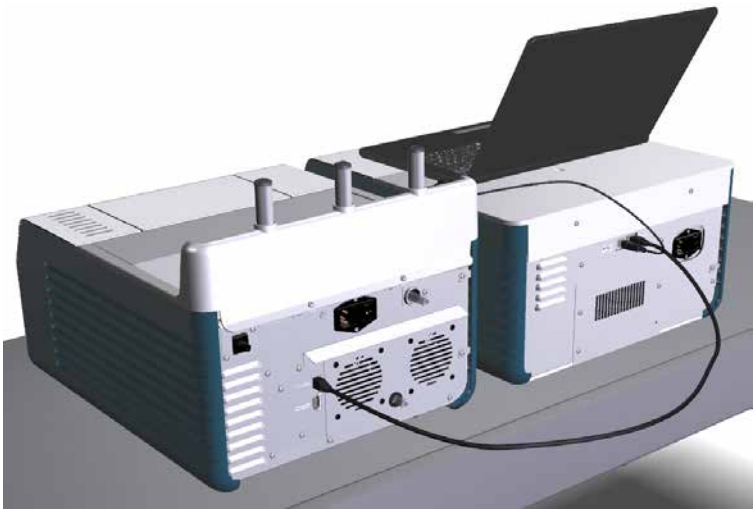



***Anmerkung:***

*Es empfiehlt sich, den Ruhemodus des Computers zu deaktivieren oder auf 3 Stunden einzustellen, wenn der Computer an das Amersham WB analyzer angeschlossen ist. Bei Eintritt in den Ruhemodus wird die Verbindung zum Remote-Zugriff auf das Gerät unterbrochen, sodass der Programmlaufstatus erst hochgeladen wird, wenn der Computer wieder aktiv ist.*

2 Die Elpho & scan Geräteeinheit (Kontakt: **Western unit**) unter Verwendung des mitgelieferten Ethernet-Kabels mit der Western Geräteeinheit (Kontakt: **Elpho and scan unit**) verbinden.



| Schritt | Maßnahme |
|---|---|
| 3 | Netzkabel mit den Netzkabelanschlüssen der Geräteeinheiten verbinden.<br> |
| 4 | Netzkabel an eine geerdete Wandsteckdose anschließen.<br>Angaben zu Spannung und Frequenz finden Sie unter *Abschnitt 7.1 Systemspezifikationen, auf Seite 221*. |

***Anmerkung:*** *Den Netzschalter erst ausschalten, wenn alle Anschlüsse vorgenommen wurden.*

## Die Schlauchtürme des Western-Geräts zusammenbauen

Die Schlauchschäfte für die Schläuche der Western Geräteeinheit sind in der Lieferpackung nicht vormontiert und müssen vom Benutzer zusammengebaut werden.

| Schritt | Maßnahme |
|---|---|
| 1 | Den Kunststoffbeutel mit den Schäften und Schläuchen öffnen. |

| Schritt | Maßnahme |
|---|---|
| 2 | Jeden Schaft nach unten in die Öffnung drücken und im Uhrzeigersinn drehen, bis er einrastet.<br>Die Schläuche sollten folgendermaßen installiert werden: |

| Schaftposition (aus Sicht der Gerätevorderseite) | Schlauch |
|---|---|
| Links | **T buffer** und **T water** |
| Mitte | **P water**, **P block** und **P wash** |
| Rechts | **P Final wash** und **P Custom** |

***Anmerkung:***

*Darauf achten, beim Montieren der Schäfte keine Schlauchbeschriftung zu entfernen.*

## Anbringen der Schlauchhalter

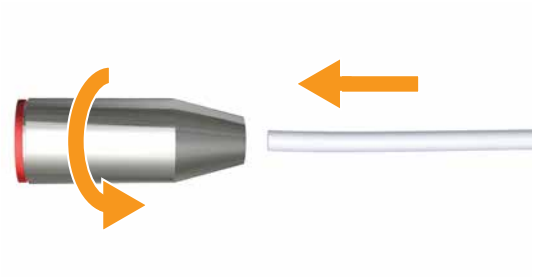
Um Spannungen zu kompensieren, die auftreten, wenn Schläuche in Flaschen platziert werden, und um zu vermeiden, dass Flaschen bei sinkenden Füllständen herunterfallen, müssen an allen Schläuchen Schlauchhalter angebracht werden.

***Anmerkung:*** *Schlauchhalter müssen an alle Schläuche montiert werden, bevor die Einlassfilter angebracht werden.*

| Schritt | Maßnahme |
|---|---|
| 1 | Einen Schlauch in die Öffnung des Schlauchhalters stecken. |
| 2 | Das offene Schlauchende weiter in den Schlitz am Schlauchhalter stecken.<br>***Anmerkung:***<br>*Sicherstellen, dass die Schlauchbeschriftungen noch am Schlauch angebracht sind. Die Beschriftung muss nicht innerhalb des Schlauchhalters liegen.* |

## Anbringen der Einlassfilter an den Schläuchen

Setzen Sie den Schlauch in die Filterhalterung mit Einlassfilter und drehen Sie den Filter, um den Schlauch festzuziehen.

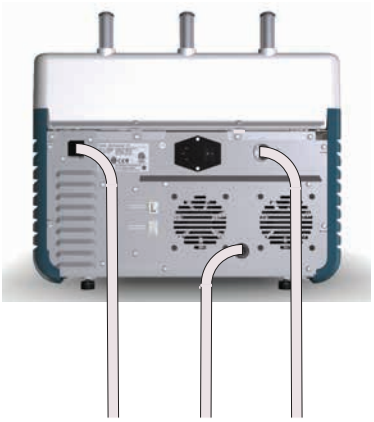


## Positionieren des Ablauf- und Überlaufschlauchs

**VORSICHT**

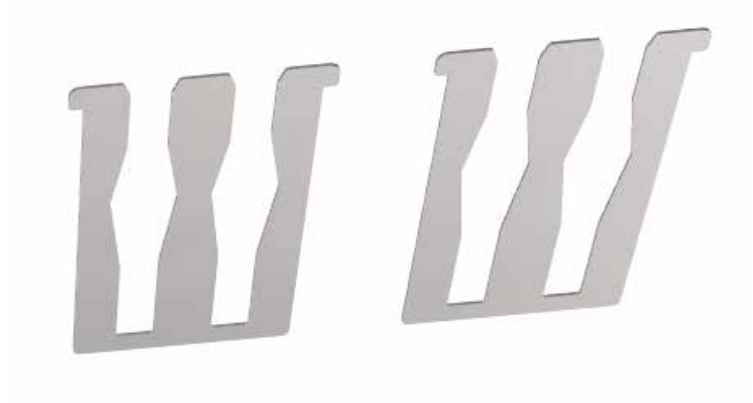
Der Ablauf- und Überlaufschlauch muss ordnungsgemäß befestigt werden, um das Risiko zu vermeiden, dass der Schlauch aus dem Abfallbehälter herausfällt.

Den Ablauf- und Überlaufschlauch so platzieren, dass die Auslässe niedriger als der Arbeitstisch liegen, auf der das Amersham WB analyzer aufgestellt ist. Den Schlauch auf eine passende Länge zuschneiden und befestigen, um das Risiko zu vermeiden, dass der Schlauch aus dem Abfallbehälter herausfällt.

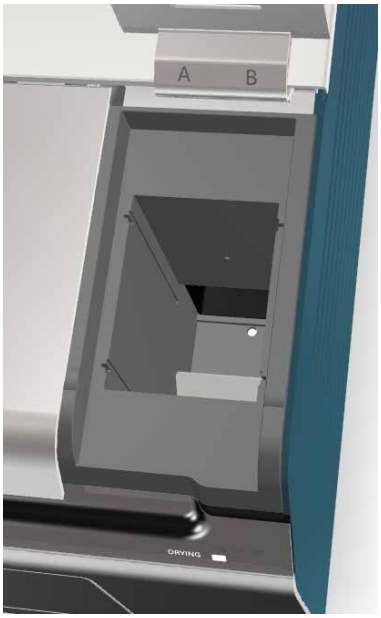


## Einbauen der Membrantrocknerführungen im Trocknerfach

| Schritt | Maßnahme |
|---|---|
| 1 | Den Kunststoffbeutel mit den zwei Membrantrocknerführungen öffnen. |

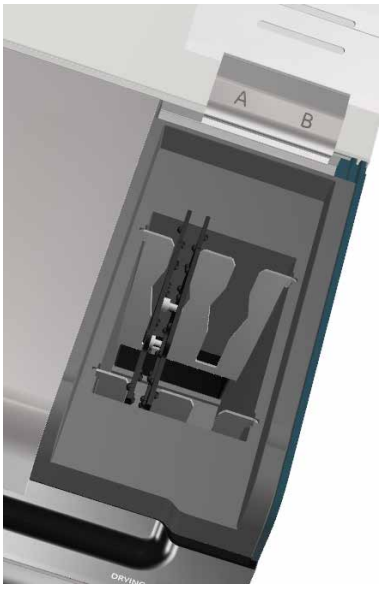


| | |
|---|---|
| 2 | Den Deckel des Trocknerfachs öffnen. |



| Schritt | Maßnahme |
|---|---|
| 3 | Die Membrantrocknerführungen in die zwei Schlitze setzen. |

| | |
|---|---|
| 4 | Bewahren Sie den Trocknungshalter im Trocknungsfach auf. |



## Einbauen eines Matrixmarkierungslesers (optional)

| Schritt | Maßnahme |
|---|---|
| 1 | Das USB-Kabel an den Matrixmarkierungsleser anschließen. |
| 2 | Das USB-Kabel am Computer anschließen. |
| 3 | Den Matrixmarkierungsleser gemäß den Anweisungen in der Benutzerdokumentation für den Matrixmarkierungsleser programmieren und seine Funktion überprüfen. |

# 4.3 Softwareinstallation

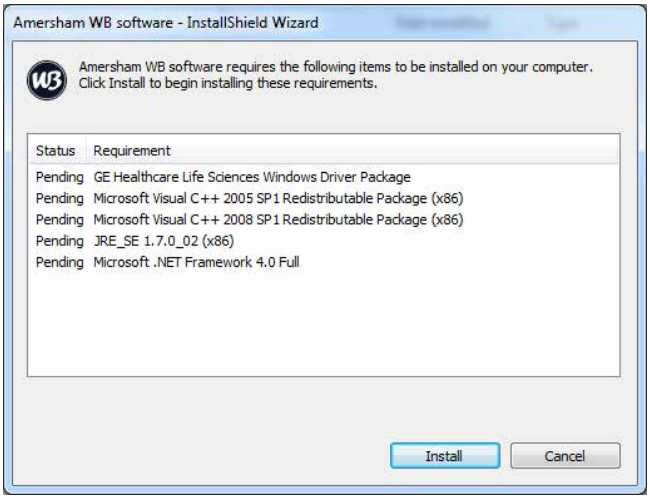
## Installieren der Amersham WB software

So wird die Software auf einem Computer mit Windows 7 Professional installiert:

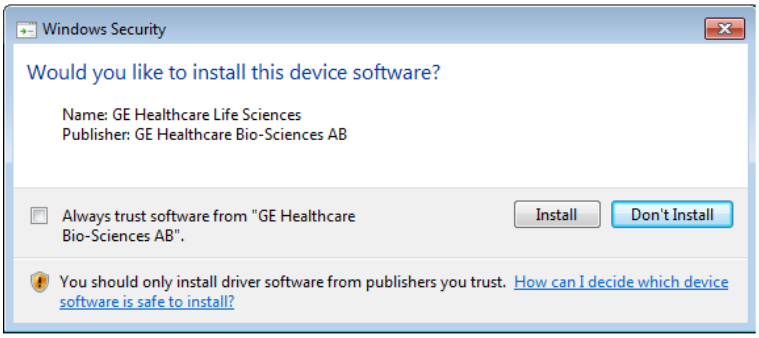
***Anmerkung:*** *Es empfiehlt sich, vor der Installation der Software alle ausstehenden Windows-Aktualisierungen zu installieren und die Anweisungen in den Bedienerhinweisen zu befolgen.*

*Es empfiehlt sich, nach einem Klick auf **Install** (Installieren) die vollständige Installation (ohne Unterbrechungen) durchzuführen.*

| Schritt | Maßnahme |
|---|---|
| 1 | Die Software-DVD in den Computer einlegen.<br>Wenn das erste Assistentendialogfeld angezeigt wird, auf ***Install*** (Installieren) klicken, um die Softwarevoraussetzungen zu installieren. |


Amersham WB software - InstallShield Wizard
Amersham WB software requires the following items to be installed on your computer. Click Install to begin installing these requirements.
Status
Requirement
Pending GE Healthcare Life Sciences Windows Driver Package
Pending Microsoft Visual C++ 2005 SP1 Redistributable Package (x86)
Pending Microsoft Visual C++ 2008 SP1 Redistributable Package (x86)
Pending JRE_SE 1.7.0_02 (x86)
Pending Microsoft .NET Framework 4.0 Full
Install
Cancel

| Schritt | Maßnahme |
|---|---|
| 2 | Wenn das Dialogfeld ***Windows Security*** (Windows-Sicherheit) angezeigt wird, auf die Schaltfläche ***Install*** (Installieren) klicken. |


Windows Security
Would you like to install this device software?
Name: GE Healthcare Life Sciences
Publisher: GE Healthcare Bio-Sciences AB
Always trust software from "GE Healthcare Bio-Sciences AB".
Install
Don't Install
You should only install driver software from publishers you trust. How can I decide which device software is safe to install?

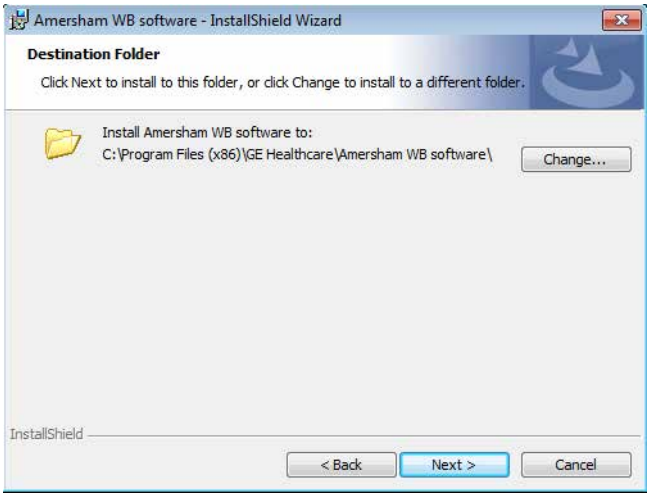
| | |
|---|---|
| 3 | Wenn alle Voraussetzungen erfolgreich installiert wurden, die Installation der Software durch Klick auf ***Next*** (Weiter) im Dialogfeld ***Welcome to the InstallShield Wizard for Amersham WB software*** (Willkommen zum InstallShield-Assistenten für ...) starten. |

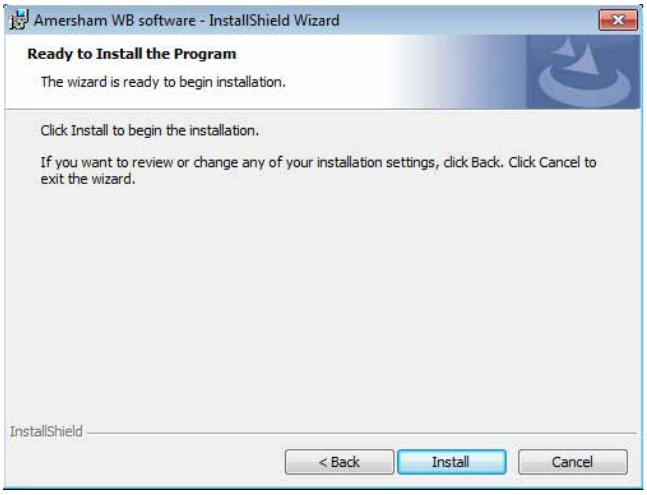
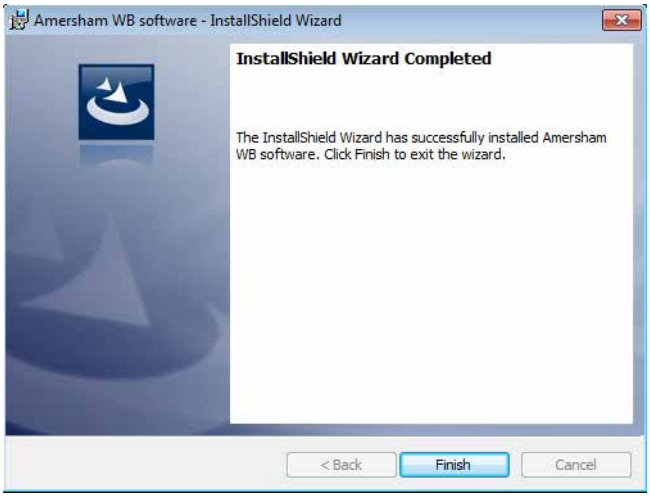
Amersham WB software - InstallShield Wizard
Welcome to the InstallShield Wizard for Amersham WB software
The InstallShield(R) Wizard will install Amersham WB software on your computer. To continue, click Next.
WARNING: This program is protected by copyright law and international treaties.
< Back
Next >
Cancel

| Schritt | Maßnahme |
|---|---|
| 4 | Die Software-Lizenzvereinbarung lesen. Wenn die Lizenzvereinbarung gelesen und angenommen wurde, die Option ***I accept....*** (Ich akzeptiere) auswählen und auf ***Next*** (Weiter) klicken. |

Amersham WB software - InstallShield Wizard
License Agreement
Please read the following license agreement carefully.
GE Healthcare
STANDARD SOFTWARE END-USER LICENSE AGREEMENT FOR LIFE SCIENCES SOFTWARE PRODUCTS
IMPORTANT - PLEASE READ CAREFULLY
THIS IS THE LICENSE AGREEMENT THAT END-USER IS REQUIRED TO ACCEPT BEFORE INSTALLING AND USING GE HEALTHCARE SOFTWARE. CAREFULLY READ ALL OF THE TERMS AND CONDITIONS OF THIS LICENSE AGREEMENT BEFORE PROCEEDING
I accept the terms in the license agreement
I do not accept the terms in the license agreement
Print
InstallShield
< Back
Next >
Cancel

| | |
|---|---|
| 5 | • Um das Standardverzeichnis zu ändern (nicht empfohlen), auf ***Change*** (Ändern) klicken und zum gewünschten Verzeichnis navigieren.<br>• Auf ***Next*** (Weiter) klicken. |


Amersham WB software - InstallShield Wizard
Destination Folder
Click Next to install to this folder, or click Change to install to a different folder.
Install Amersham WB software to:
C:\Program Files (x86)\GE Healthcare\Amersham WB software\
Change...
InstallShield
< Back
Next >
Cancel

| Schritt | Maßnahme |
|---|---|
| 6 | • Zum Überprüfen oder Ändern der Installationseinstellungen auf ***Back*** (Zurück) klicken.<br>• Zum Starten der Installation auf ***Install*** (Installieren) klicken.<br>  |
| 7 | Auf ***Finish*** (Fertig stellen) klicken, um den Installationsassistenten zu beenden.<br>  |

## Überprüfen der Gerätekommunikation

| Schritt | Maßnahme |
|---|---|
| 1 | Den Computer, die Elpho & scan Geräteeinheit und die Western Geräteeinheit einschalten. |
| 2 | Die Amersham WB software starten.<br>*Ergebnis:*<br>Die Software zeigt die hergestellten Kommunikationsverbindungen mit den Geräteeinheiten an.<br>Wenn die Kommunikation nicht hergestellt ist:<br>• Es können falsche Kabel- oder Netzkabelverbindungen vorliegen: Die gesamte Hardwareinstallation überprüfen.<br>• Die USB-Treiberroutine kann falsch sein: Den USB-Anschluss am Computer wechseln. |

# 5 Durchführen eines Experiments

## Zu diesem Kapitel

Dieser Abschnitt liefert einen Überblick über die zwei Haupttypen von Experimenten, die mit dem Amersham WB system durchgeführt werden können. Er beschreibt auch den Workflow des Experimenttyps ***Western with total protein normalization*** (Western mit Gesamtprotein-Normalisierung).

## Vorsichtsmaßnahmen

**VORSICHT**

Während des Betriebs und der Wartung des Amersham WB analyzer stets Handschuhe, Schutzkleidung und eine Schutzbrille tragen.

## In diesem Kapitel

Dieses Kapitel enthält die folgenden Abschnitte:


| Abschnitt | Siehe Seite |
|---|---|
| 5.1 Übersicht | 118 |
| 5.2 Die Amersham WB analyzer starten. | 122 |
| 5.3 Einrichten eines Experiments in der Software | 124 |
| 5.4 Durchführen des Prelabelings von Proben | 128 |
| 5.5 Vorbereiten Amersham WB molecular weight markers | 132 |
| 5.6 Durchführen der Proteinelektrophorese | 134 |
| 5.7 Durchführen des Transfers | 148 |
| 5.8 Durchführen von Sondierung und Trocknung | 173 |

| Abschnitt | Siehe Seite |
|---|---|
| 5.9 Scannen der Membran und Anzeigen der Ergebnisse | 189 |

# 5.1 Übersicht

## Einführung

Dieser Abschnitt liefert einen Überblick über die zwei Haupttypen von Experimenten, die durchgeführt werden können:

- Elektrophorese-Experimente
- Western Experimente (umfasst die Proteinelektrophorese)

In diesem Abschnitt wird auch der Workflow eines typischen Experiments beschrieben (beschrieben in den folgenden Abschnitten), der mit dem Experimenttyp ***Western with total protein normalization*** (Western mit Gesamtprotein-Normalisierung) veranschaulicht wird.

## Elektrophorese-Experimente

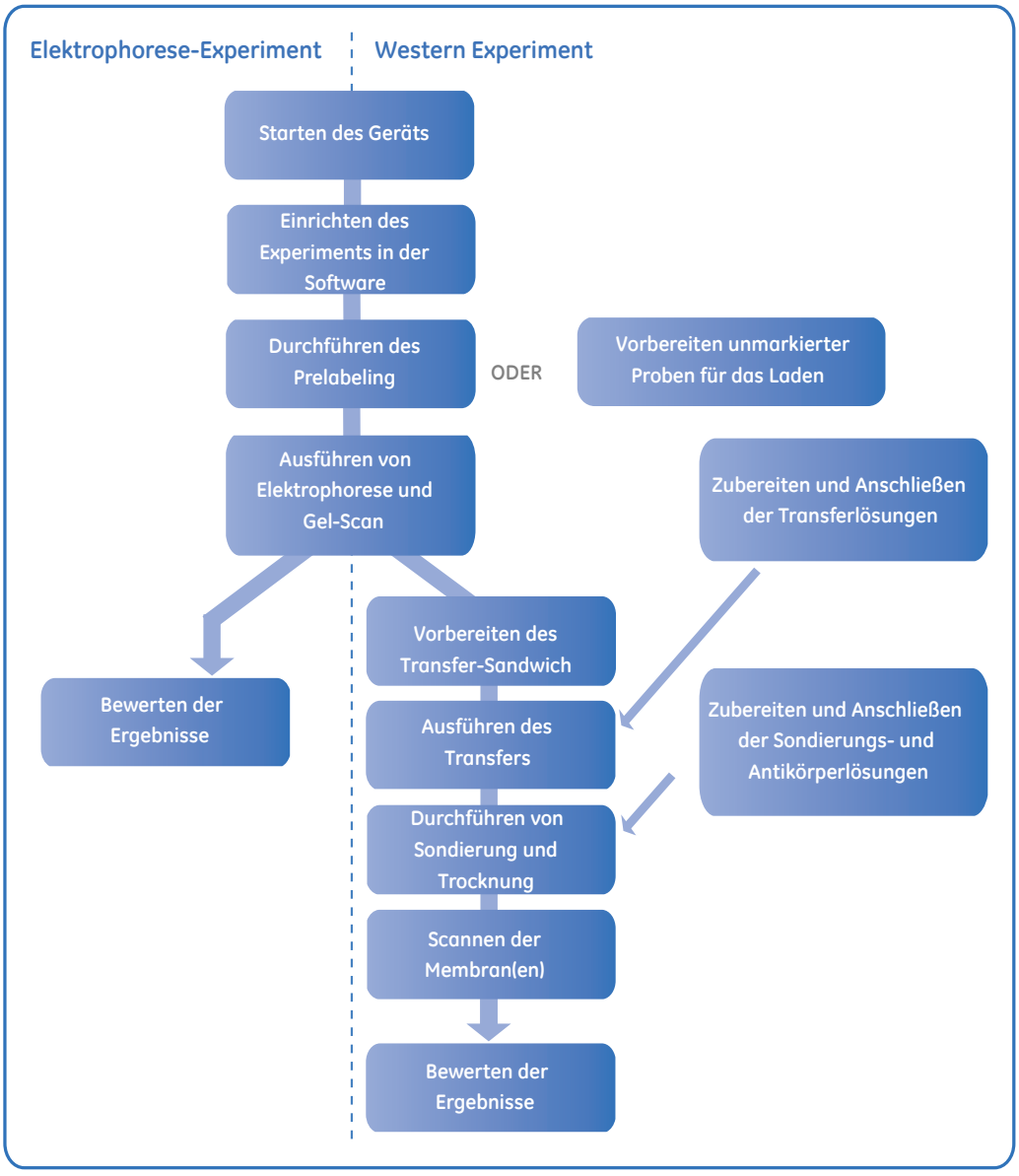
Bei Elektrophorese-Experimenten werden die Proben vor der Elektrophorese mit Cy5-Farbstoff-Reagenz vormarkiert. Dies ermöglicht eine direkte Detektion der vormarkierten Proteine in der Probe, wodurch die Notwendigkeit für eine nachträgliche Färbung des Gels entfällt. Im Evaluierungsschritt nach dem Gel-Scannen wird die automatische Analyse der Proteinbänder durchgeführt und die Ergebnisse werden in der Software dargestellt.

## Western-Experimente

In Western-Experimenten werden unmarkierte oder Cy5-vormarkierte Proteine während der Elektrophorese im Gel getrennt und dann vom Gel auf eine Membran transferiert. Die Membran wird mit primären und sekundären Antikörpern sondiert, die zum Nachweis der Zielproteine mit Cy3- oder Cy5-Farbstoff konjugiert sind. Für den Gesamtprotein-Nachweis wird die Probe mit Cy5 vormarkiert. Nach der Sondierung wird die Membran getrocknet und danach gescannt. Im Auswertungsschritt wird eine automatische Analyse der Proteinbänder vorgenommen und die Ergebnisse werden in der Software dargestellt.

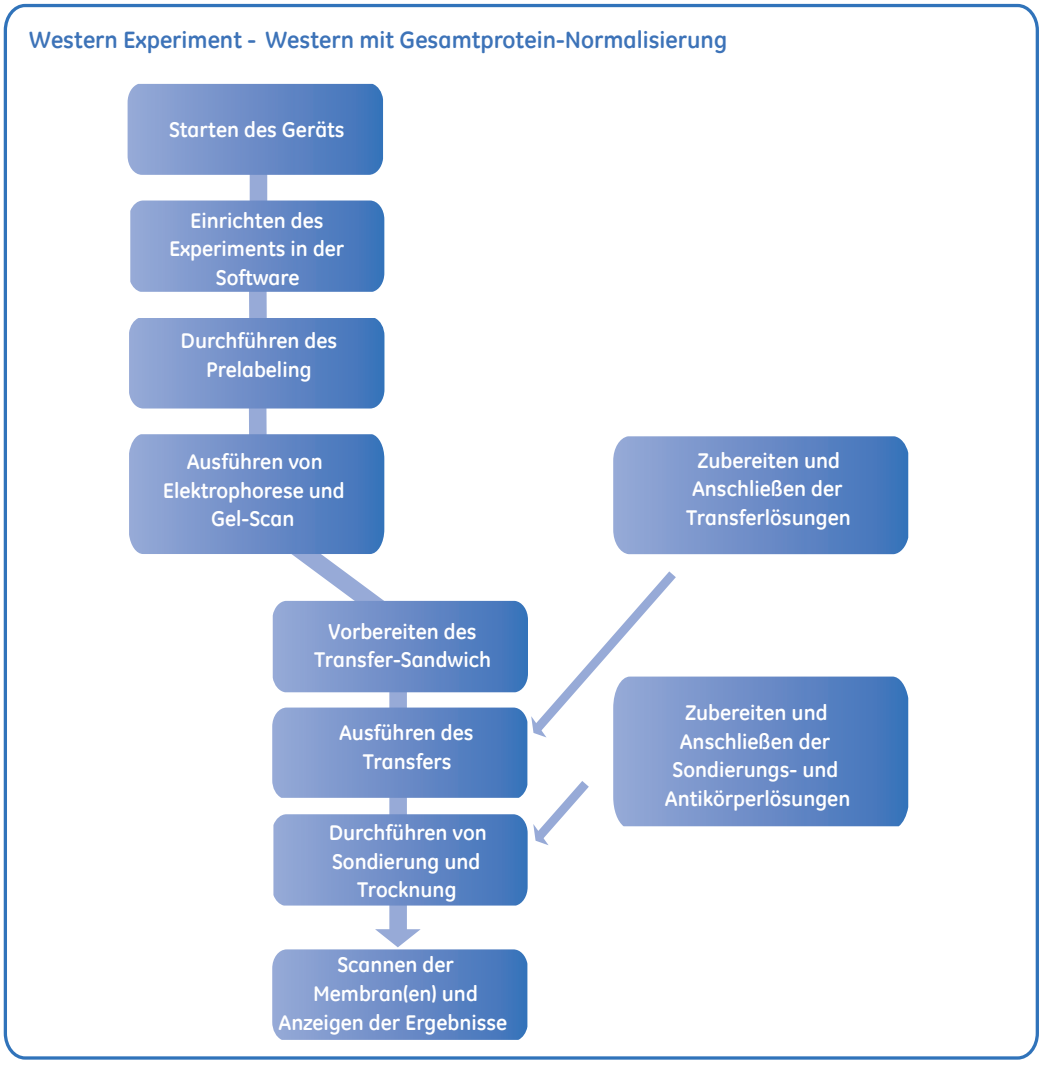
## Allgemeiner Überblick über den Workflow

Die nachstehende Abbildung zeigt die Hauptschritte in Elektrophorese- und Western Experimenten.



## Workflow - Western Experiment mit Gesamtprotein-Normalisierung

Die nachstehende Abbildung zeigt die Hauptschritte des Experimenttyps ***Western with total protein normalization*** (Western mit Gesamtprotein-Normalisierung). Dieser Workflow wird verwendet, um beispielhaft darzustellen, wie ein typisches Experiment durchgeführt wird. Er wird in den folgenden Abschnitten weiter erläutert. Andere Typen von Experimenten siehe das Amersham WB system User Manual.


Western Experiment - Western mit Gesamtprotein-Normalisierung
Starten des Geräts
Einrichten des Experiments in der Software
Durchführen des Prelabeling
Ausführen von Elektrophorese und Gel-Scan
Zubereiten und Anschließen der Transferlösungen
Vorbereiten des Transfer-Sandwich
Ausführen des Transfers
Zubereiten und Anschließen der Sondierungs- und Antikörperlösungen
Durchführen von Sondierung und Trocknung
Scannen der Membran(en) und Anzeigen der Ergebnisse

In der nachstehenden Tabelle werden die Abschnitte aufgeführt, in denen die Schritte beschrieben werden.

| Schritt | Siehe... |
|---|---|
| Starten des Geräts | *Abschnitt 5.2 Die Amersham WB analyzer starten., auf Seite 122* |
| Einrichten eines Experiments in der Software | *Abschnitt 5.3 Einrichten eines Experiments in der Software, auf Seite 124* |
| Durchführen des Prelabeling | *Abschnitt 5.4 Durchführen des Prelabelings von Proben, auf Seite 128* |
| Ausführen von Elektrophorese und Scan | *Abschnitt 5.6 Durchführen der Proteinelektrophorese, auf Seite 134* |
| Zubereiten und Anschließen der Transferlösungen | *Abschnitt 5.7.1 Zubereiten und Anschließen der Transferlösungen, auf Seite 149* |
| • Vorbereiten des Transfer-Sandwich<br>• Ausführen des Transfers | *Abschnitt 5.7 Durchführen des Transfers, auf Seite 148* |
| Zubereiten und Anschließen der Sondierungs- und Antikörperlösungen | *Abschnitt 5.8.1 Zubereiten und Anschließen der Sondierungs- und Antikörperlösungen, auf Seite 174* |
| Durchführen von Sondierung und Trocknung | *Abschnitt 5.8 Durchführen von Sondierung und Trocknung, auf Seite 173* |
| Scannen der Membran und Anzeigen der Ergebnisse | *Abschnitt 5.9 Scannen der Membran und Anzeigen der Ergebnisse, auf Seite 189* |

## Suche nach weiteren Informationen

Hintergrundinformationen und detaillierte Informationen über die Planung der Experimente finden Sie im *Amersham WBsystem User Manual*. Auf dieses kann von der Software aus zugegriffen werden, indem Sie ***Help:View user manual*** in der Menüleiste wählen.

Weitere Einzelheiten zu der Software finden Sie in der *Amersham WB software help*, die mit der Software (verfügbar im rechten Fenster der Software) integriert ist.

# 5.2 Die Amersham WB analyzer starten.

## Einführung

In diesem Abschnitt wird das Starten der Amersham WB analyzer Geräteeinheiten beschrieben. Auf einem Bürocomputer ohne Internetverbindung kann ein Experiment vorab eingerichtet werden.

***Anmerkung:*** *Beide Geräteeinheiten müssen während eines Programmlaufs eingeschaltet sein.*

## Starten der Amersham WB elpho & scan Geräteeinheit

| Schritt | Maßnahme |
|---|---|
| 1 | Schalten Sie den Netzschalter auf der Rückseite der Elpho & scan Geräteeinheit auf **I** (AN). |

*Ergebnis:* Die Elpho & scan Geräteeinheit wird gestartet.

2 Während des Starts zeigt das Gerätebedienfeld Folgendes an:

Wenn die Geräteeinheit einsatzbereit ist, wird ein weißes Quadrat angezeigt.

## Starten der Amersham WB western Geräteeinheit

| Schritt | Maßnahme |
|---|---|
| 1 | Schalten Sie den Netzschalter auf der Rückseite der Western Geräteeinheit auf **I** (AN).<br><br>***Anmerkung:***<br>*Die Elpho & scan Geräteeinheit muss eingeschaltet sein, bevor die Western Geräteeinheit laufen kann.*<br><br> <br><br><br>*Ergebnis:* Die Western Geräteeinheit wird gestartet. |
| 2 | Während des Starts zeigt das Gerätebedienfeld Folgendes an:<br><br> <br><br><br>Wenn die Fächer der Western Geräteeinheit einsatzbereit sind, wird für jedes der drei Fächer (Transfer, Sondierung und Trocknung) ein weißes Quadrat angezeigt.<br><br> <br> |

# 5.3 Einrichten eines Experiments in der Software

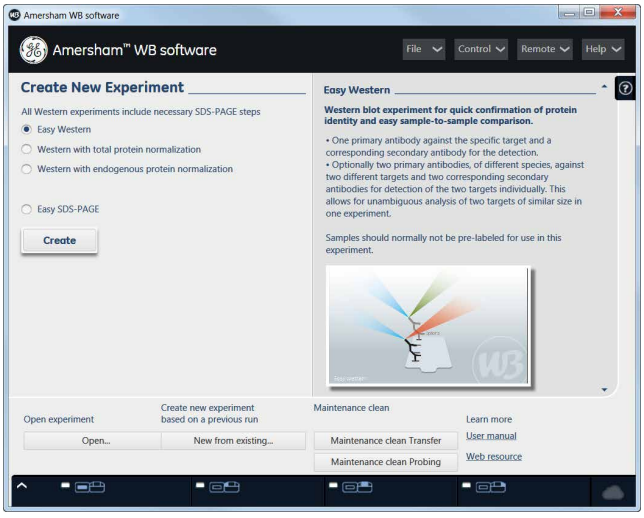
## Einführung

In diesem Abschnitt wird kurz erläutert, wie die Amersham WB software gestartet und ein Amersham WB Experiment in der Software eingerichtet wird. Ausführliche Informationen finden Sie im Amersham WB software Help in im rechten Fensterbereich der Software.

## Starten der Software

| Schritt | Maßnahme |
|---|---|
| 1 | Den Computer starten und bei Microsoft Windows anmelden. |
| 2 | Auf das Symbol Amersham WB software auf dem Desktop doppelklicken. |

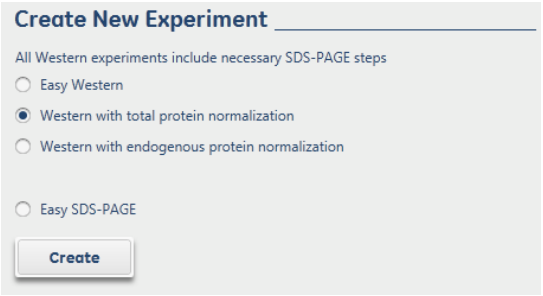
*Ergebnis:* Der Startbildschirm der Software wird angezeigt.

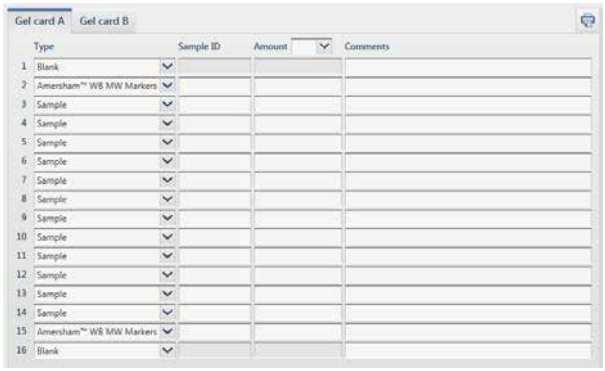

Amersham WB software
Amersham™ WB software
File
Control
Remote
Help
Create New Experiment
All Western experiments include necessary SDS-PAGE steps
Easy Western
Western with total protein normalization
Western with endogenous protein normalization
Easy SDS-PAGE
Create
Easy Western
Western blot experiment for quick confirmation of protein identity and easy sample-to-sample comparison.
• One primary antibody against the specific target and a corresponding secondary antibody for the detection.
• Optionally two primary antibodies, of different species, against two different targets and two corresponding secondary antibodies for detection of the two targets individually. This allows for unambiguous analysis of two targets of similar size in one experiment.
Samples should normally not be pre-labeled for use in this experiment.
Open experiment
Open...
Create new experiment based on a previous run
New from existing...
Maintenance clean
Maintenance clean Transfer
Maintenance clean Probing
Learn more
User manual
Web resource

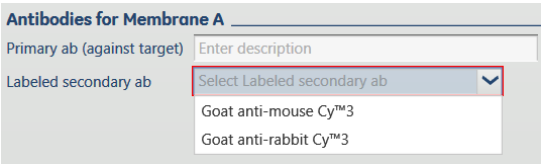
***Tipp:*** *Um das Hilfefeld mit Hilfeanweisungen für den aktiven Bildschirm anzuzeigen, auf die Hilfefeld-Schaltfläche* *klicken oder* ***F1*** *drücken.*

*Zum Öffnen des Benutzerhandbuchs das Menüelement **Help:View user manual** (Hilfe:Benutzerhandbuch anzeigen) auswählen oder **Strg + F1** drücken.*

## Erstellen und Einrichten eines Experiments

| Schritt | Abbildung des Schritts | Aktion des Bedieners |
|---|---|---|
| 1 |  | Den Experimenttyp auswählen und auf ***Create*** (Erstellen) klicken. In diesem Beispiel: ***Western with total protein normalization*** (Western mit Gesamtprotein-Normalisierung).<br>*Ergebnis:* Der Hauptbildschirm der Software wird angezeigt. Hier wird der Arbeitsschritt ***EXPERIMENT & SAMPLES*** (Experiment und Proben) dargestellt.<br>Einen Überblick über den Hauptbildschirm finden Sie unter *Abschnitt 3.9 Überblick über die Software, auf Seite 89*. |
| 2 | | • Die Anzahl der Gelkarten für das Experiment wählen.<br>• Den Gelkartentyp auswählen. Informationen über Proteintrennungsintervalle finden Sie unter *Auflösung der Proteintrennung, auf Seite 71*.<br>*Ergebnis:* Die Tabelle ***Gel card A*** (Gelkarte A) und die Optionen im Bereich ***Antibodies for Membrane A*** (Antikörper für Membran A) sind aktiviert. |

| Schritt | Abbildung des Schritts | Aktion des Bedieners |
|---|---|---|
| 3 |  | Probeninformationen und Kommentare in der Tabelle ***Gel card A*** (Gelkarte A) eingeben (optional).<br><br>Informationen über Molekulargewichtsmarker und die automatische Berechnung der Kalibrierungskurve für das Molekulargewicht finden Sie unter *Abschnitt 3.6.1 Amersham WB molecular weight markers, auf Seite 68*.<br><br>***Tipp:***<br>*Die Probentabelle wird während der Elektrophorese nicht gesperrt. Wenn ein Programmlauf schnell gestartet werden muss, kann die Tabelle daher im Elektrophorese-Schritt ausgefüllt werden, nachdem der Programmlauf gestartet wurde.* |

| Schritt | Abbildung des Schritts | Aktion des Bedieners |
|---|---|---|
| 4 |  | Den Namen / die Beschreibung des ***Primary ab (against target)*** (Primärer Antikörper [gegen Ziel]) (optional) eingeben und den passenden ***Labeled secondary ab*** (Markierter sekundärer Antikörper) auf der Registerkarte ***Gel card A*** (Gelkarte A) auswählen.<br><br>In diesem Protokoll wurde Cy5 für das Prelabeling verwendet. Einen Cy3-konjugierten sekundären Antikörper wählen.<br><br>Die Schritte 3 und 4 für Gelkarte B wiederholen, falls im Experiment enthalten.<br><br>***Tipp:***<br><br>*Das Protokoll kann ausgedruckt und in Verbindung mit der Probenzubereitung und dem Prelabeling genutzt werden. Zum Drucken des Protokolls auf das Symbol* *rechts von den Registerkarten für die Gelkarten klicken oder* ***Strg + P*** *drücken.* |

# 5.4 Durchführen des Prelabelings von Proben

## Einführung

Bei der Ausführung von Elektrophorese-Experimenten ist das Prelabeling von Proben für den Nachweis erforderlich. Es ist auch in Western-Experimenten erforderlich, wenn das Gesamtprotein auf einer Membran nachgewiesen wird.

Dieser Abschnitt beschreibt:

- Voraussetzungen für das Prelabeling
- Erforderliche Materialien für das Prelabeling
- Vorbereitungen vor dem Starten des Prelabelings
- Markierung von Proben (Prelabeling-Protokoll)

In diesem Beispiel wird ein Prelabeling von Zell-/Gewebelyseproben durchgeführt, die in einem ***Western with total protein normalization*** Experiment (Western-Experiment mit Gesamtprotein-Normalisierung) verwendet werden sollen. Weitere Informationen zum Prelabeling finden Sie im *Amersham WB system User Manual*.

## Vorsichtsmaßnahmen

**ACHTUNG**

Beim Arbeiten mit dem Prelabeling von Proteinproben:

- Stets Schutzkleidung, Handschuhe und eine Schutzbrille tragen.
- Vor dem Prelabeling von Proben das Sicherheitsdatenblatt (SDB) lesen.

**VORSICHT**

Wenn das Prelabeling von Proteinen in Proben durchgeführt wurde, kann sich durch Spuren von Dimethylsulfid (DMS) und Dimethylsulfoxid (DMSO) ein stechender Geruch entwickeln. Eine örtliche Absauganlage kann erforderlich sein. Örtliche Bestimmungen und Anweisungen für den sicheren Betrieb befolgen.

***Anmerkung:*** *Um vergleichbare Markierungsleistungen zu erhalten, sollten wichtige Parameter wie pH-Wert, Reaktionsvolumen, Temperatur und Puffersalze unveränderlich sein.*

*Zudem variieren die Markierungsleistungen zwischen verschiedenen Proteinen.*

## Voraussetzungen für das Prelabeling von Proben mittels des Western Prelabeling-Protokolls

### Kompatible Lysepuffer

Gemeinsame Lysepuffer auf TRIS-Basis mit pH 7 bis 9 und mit unterschiedlichen Detergenzien und Salzen sind kompatibel mit der Vormarkierung von Zell-/Gewebeproben, zum Beispiel:

- GE Säugetier-Proteinextraktionspuffer
- RIPA-Puffer

### Proben-pH-Wert

Der Proben-pH-Wert sollte zwischen 7 und 9 liegen.

Optimaler pH-Wert ist nicht entscheidend für die Zelllysate und Gewebeextrakte, da eine hohe Empfindlichkeit für das Gesamtproteinsignal nicht erforderlich ist. Das Gesamtproteinsignal in einem Western Experiment mit Gesamtproteinnormalisierung sollte proportional zur Proteinmenge (nicht abhängig von hoher Empfindlichkeit) sein.

## Erforderliche Lösungen und Materialien

Für das Prelabeling von Proteinen sind die folgenden Lösungen und Materialien erforderlich:

- Prelabeling-Verbrauchsmaterialien: Cy5-Farbreagens, Markierungspuffer, Ladepuffer
- 1 M DTT (Dithiothreitol)-Stammlösung (DTT und Reinstwasser), wenn eine reduzierende SDS-PAGE durchgeführt wird
- Reinstwasser zur Verdünnung des Cy5-Farbstoffreagenz
- Original-Lysepuffer zur Anpassung des Reaktionsvolumens (nur Western Experimente)
- 0,5-ml-Mikrozentrifugenröhrchen
- Heizblock
- Vortex
- Zentrifuge

## Vorbereitungen vor dem Starten des Prelabelings

| Schritt | Maßnahme |
|---|---|
| 1 | • Eines von jedem der folgenden Fläschchen (ausreichend für den Durchlauf von zwei Gelkarten) aus dem Gefrierfach herausnehmen:<br>- 1 Fläschchen Amersham WB Cy5<br>- 1 Fläschchen Amersham WB loading buffer<br>• Die Prelabeling-Komponenten vollständig auftauen.<br>• Das Cy5-Fläschchen vor dem Öffnen in das Gleichgewicht auf Raumtemperatur bringen, um die Kondensation von Feuchtigkeit zu vermeiden. |
| 2 | Die Cy5-Farbreagens-Flüssigkeit mit einer Zentrifuge kurz herunterzentrifugieren. |
| 3 | Die Temperatur des Heizblocks auf 95 °C einstellen. |
| 4 | Für eine reduzierende SDS-PAGE ein Reduzieragens zum Ladepuffer hinzugeben:<br>• 29 µl 1 M DTT-Stammlösung zu 0,7 ml (ein Fläschchen) Ladepuffer hinzugeben und zum Mischen kreisen lassen. |

## Durchführen des Prelabelings von Proben (Western Prelabeling-Protokoll)

***Tipp:*** *Das nachfolgende Protokoll kann aufskaliert werden.*

| Schritt | Maßnahme |
|---|---|
| 1 | Die Markierungsreaktion in einem 0,5-ml-Mikrozentrifugenröhrchen durchführen:<br>• 2-19 µl Zelllysat- oder Gewebeextraktprobe hinzugeben (maximal 40 µg Gesamtprotein) und mit Lysepuffer der Originalprobe auf ein Volumen von 19 µl auffüllen.<br>• Geben Sie 1 µl Cy5-Farbstoffreagenz, verdünnt 1:10 in Reinstwasser hinzu.<br>***Anmerkung:***<br>*Der verdünnte Farbstoff muss frisch zubereitet und innerhalb von 30 Minuten verwendet werden. Er kann nicht eingefroren und wiederverwendet werden.*<br>• Zur sorgfältigen Durchmischung kurz kreisen lassen. |
| 2 | Bei Raumtemperatur für 30 Minuten inkubieren.<br>***Anmerkung:***<br>*Markierungszeit und Volumen müssen für alle Proben gleich sein.*<br>*Bei temperaturempfindliche Proben für 30 Minuten auf Eis inkubieren.* |
| 3 | Geben Sie 20 µl Ladepuffer hinzu. |
| 4 | Die Proben 3 Minuten lang auf 95 °C erhitzen. |
| 5 | Zentrifugieren Sie die Proben. Das Gesamtprobenvolumen beträgt 40 µl pro Reaktion (empfohlenes Ladevolumen beträgt 20 µl).<br>Mit dem Laden der Proben gemäß der Beschreibung in *Vorbereitungen vor dem Start der Elektrophorese, auf Seite 135* fortfahren.<br>Wenn die Elektrophorese-Analyse in einer späteren Phase durchgeführt wird, die vormarkierten Proben bei -20 °C lagern. |

# 5.5 Vorbereiten Amersham WB molecular weight markers

## Einführung

Nehmen Sie eine Ampulle Amersham WB molecular weight markers (Molekulargewichtsmarker) (ausreichend für den Lauf von zwei Gelkarten) aus dem Gefrierschrank und lassen Sie sie vollständig auftauen.

## Western-Experimente

In Western Experimenten sollte Amersham WB molecular weight markers vor dem Laden auf die Gelkarte im Verhältnis 1:20 im Ladepuffer verdünnt werden. Vor Gebrauch muss der mitgelieferte Ladepuffer mit Reinstwasser verdünnt werden und zugegebenes DTT enthalten.

| Schritt | Maßnahme |
|---|---|
| 1 | Geben Sie 29 µl 1 M DTT-Stammlösung in 0,7 ml (eine Ampulle) Ladepuffer. Mit dem Vortexschüttler gut mischen. |
| 2 | Verdünnen Sie den DTT-haltigen Ladepuffer mit der gleichen Menge Reinstwasser. Mit dem Vortexschüttler gut mischen. |
| 3 | Verdünnen Sie die Molekulargewichtsmarker 1:20 mit dem vorbereiteten Ladepuffer. |

***Anmerkung:*** *Die Molekulargewichtsmarker können weiter im vorbereiteten Ladepuffer verdünnt werden, um Proben mit schwachen Signalen zu vergleichen. Allerdings ist es dann notwendig, die Option* ***Stop electrophoresis on time*** *auszuwählen.*

## Elektrophorese-Experimente

In Elektrophorese-Experimenten ist es normalerweise nicht notwendig, den Amersham WB molecular weight markers zu verdünnen. Falls erforderlich, verdünnen Sie den Molekulargewichtsmarker mit dem Ladepuffer, der DTT enthält (verdünnt mit dem gleichen Volumen Reinstwasser).

## Replikate

Es wird empfohlen, dem Lauf zwei Markerstreifen beizufügen, um bestmögliche Ergebnisse in der automatischen Kalibrierung des Molekulargewichts von Probenproteinen im Evaluierungsschritt zu erzielen.

# 5.6 Durchführen der Proteinelektrophorese

## Einführung

Dieser Abschnitt beschreibt die Durchführung der Proteinelektrophorese einschließlich:

- Vorbereitungen vor dem Start der Elektrophorese
- Reinigung des Probenbetts
- Starten und Überwachen von Elektrophorese und Gelkarten-Scan
- Verfahren nach Elektrophorese und Gelkarten-Scan

## In diesem Abschnitt

Dieser Abschnitt enthält die folgenden Unterabschnitte:


| Abschnitt | Siehe Seite |
|---|---|
| 5.6.1 Vor der Elektrophorese | 135 |
| 5.6.2 Ausführen der Elektrophorese | 142 |
| 5.6.3 Verfahren nach Elektrophorese und Gelkarten-Scan | 146 |

# 5.6.1 Vor der Elektrophorese

## Einführung

Dieser Abschnitt beschreibt, wie Pufferstreifen, Gelkarte, vorbereitete Amersham WB molecular weight markers und Proben für den Elektrophoreselauf geladen werden.

## Vorbereitungen vor dem Start der Elektrophorese

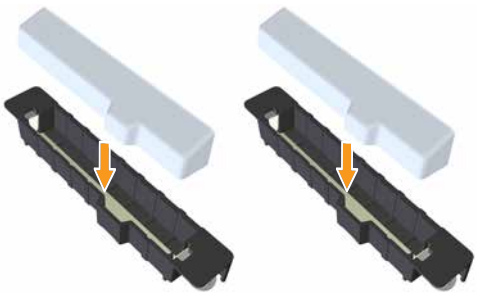
**ACHTUNG**

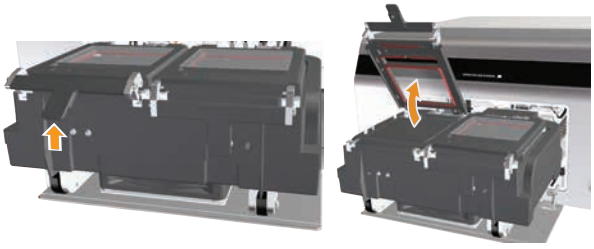
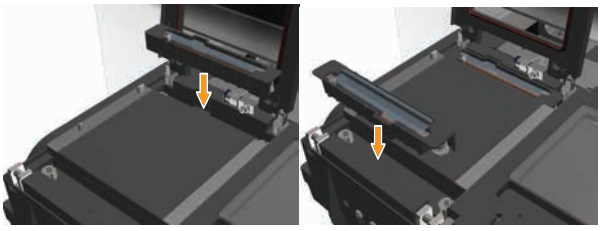
**Geplatztes Glas.** Das System nicht arbeiten lassen, wenn das Glas im Dichtungsdeckel der Elpho & scan Geräteeinheit verkratzt oder zerbrochen ist. Das Gerät ausschalten, das Stromkabel ziehen und einen autorisierten Servicetechniker verständigen.

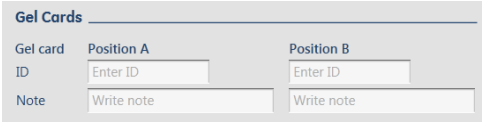
**VORSICHT**

**Bewegliche Teile.** Beim Öffnen/Schließen des Laders darauf achten, dass Finger oder Kleidung nicht eingeklemmt werden, wenn der Lader sich bewegt.

Flaschen oder Fläschchen niemals vor die Elpho & scan Geräteeinheit stellen. Sie könnten beim Öffnen des Laders herunterfallen.

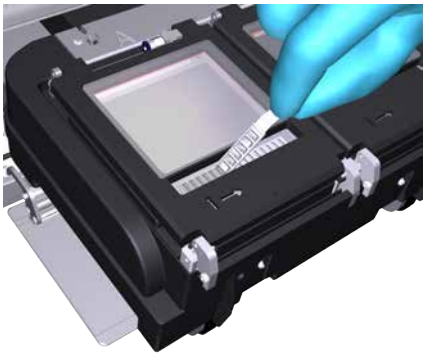
| Schritt | Abbildung des Schritts | Aktion des Bedieners |
|---|---|---|
| 1 |  | Die Pufferstreifen in den Pufferstreifenhaltern platzieren. Hierzu die zwei Pufferstreifen aus ihrer Packung direkt in die Pufferstreifenhalter drücken.<br>***Anmerkung:***<br>*Um eine Kontamination der Pufferstreifen zu vermeiden, die Pufferstreifen nicht berühren oder sicherstellen, dass saubere Handschuhe verwendet werden.* |

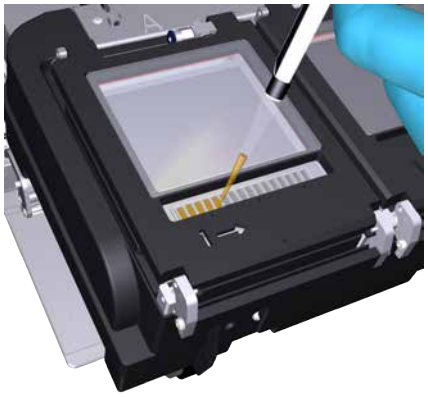
| Schritt | Abbildung des Schritts | Aktion des Bedieners |
|---|---|---|
| 2 | | Die Auswurftaste an der Elpho & scan Geräteeinheit betätigen.<br>*Ergebnis:* Der Lader wird ausgeworfen. |
| 3 |  | Den Dichtungsdeckel am Verschluss öffnen. |
| 4 |  | Die Pufferstreifenhalter in den Aushöhlungen der Kartenplatte im Lader platzieren. |

| Schritt | Abbildung des Schritts | Aktion des Bedieners |
|---|---|---|
| 5 |   | • Eine Gelkarte aus ihrer Packung herausnehmen (mit der Vorderseite nach oben weisend).<br>• *Optional:* Den Cursor im Arbeitsschritt ***ELECTROPHORESIS & GEL SCANNING*** (Elektrophorese und Gel-Scan) im Feld ***ID*** der Software platzieren und mithilfe des Matrixmarkierungslesers die Matrixmarkierung der Gelkarte (mit einem orangefarbenen Kreis gekennzeichnet) scannen.<br>Alternativ die fünfstellige ID (z. B. 00123) eintippen. |

| Schritt | Abbildung des Schritts | Aktion des Bedieners |
|---|---|---|
| 6 | | • Die Gelkarte so drehen, dass die Rückseite nach oben weist (blaue Gelgriffe ohne Etiketten weisen nach oben).<br>• Das Ende des Schutzfilms am unteren Ende der Gelkarte ergreifen und vorsichtig entfernen.<br>• Das Ende des Schutzfilms am oberen Ende der Gelkarte ergreifen und vorsichtig entfernen.<br>Durch Entfernen der Schutzfilme wird der Kontakt zwischen dem Gel und dem Puffer hergestellt, wenn die Gelkarte auf die Kartenplatte gelegt wird. Darauf achten, die frei liegenden Geloberflächen nicht zu berühren. |

| Schritt | Abbildung des Schritts | Aktion des Bedieners |
|---|---|---|
| 7 | | • Das Gel so drehen, dass die Vorderseite nach oben weist (d. h., die Probenbettabdeckung weist nach oben).<br><br>***Anmerkung:***<br><br>*Sicherstellen, dass die Kartenplatte völlig trocken ist.*<br><br>• Die Gelkarte auf der Kartenplatte platzieren. Hierzu die Löcher im Gelkartenrahmen an den Führungsstiften ausrichten, die mit orangefarbenen Kreisen gekennzeichnet sind.<br><br>***Anmerkung:***<br><br>*Darauf achten, die Kartenplatte nicht mit scharfen Gegenständen zu zerkratzen.* |

| Schritt | Abbildung des Schritts | Aktion des Bedieners |
|---|---|---|
| 8 |  | • Den Dichtungsdeckel schließen.<br>• Das Ende der Probenbettabdeckung ergreifen und vorsichtig entfernen.<br>***Tipp:***<br>*Den Griff während des Entfernens der Probenbettabdeckung wechseln, damit ein Festhalten möglichst nahe an den Betten möglich ist.*<br>***Anmerkung:***<br>*Wenn die Probenbettabdeckung zerbricht: Die Gelkarte bei geschlossenem Dichtungsdeckel im Lader belassen. Den Rest der Bettabdeckung z. B. mit einer Pinzette entfernen.* |

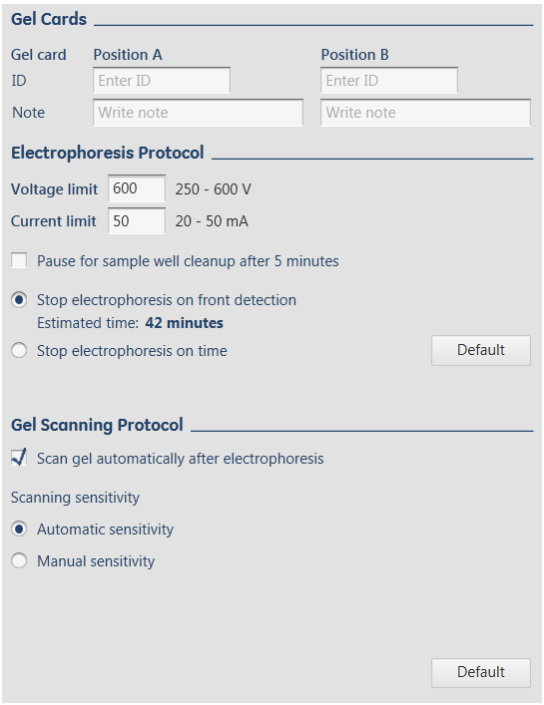
| Schritt | Abbildung des Schritts | Aktion des Bedieners |
|---|---|---|
| 9 |  | Die Proben, den Ladepuffer und/oder das Molekulargewichtsmarker gemäß der Angaben auf dem Bildschirm ***EXPERIMENT & SAMPLES*** (Experiment und Proben) der Software in die Betten laden (normalerweise 20 µl/Bett).<br><br>***Anmerkung:***<br>*Nach dem Laden der Proben niemals den Deckel öffnen.*<br><br>***Anmerkung:***<br>*Alle Vertiefungen müssen mit einer Probe, einem Ladepuffer (mit einer gleichen Menge von Reinstwasser verdünnt) oder Molekulargewichtsmarker geladen werden. Es wird empfohlen, Ladepuffer in den Vertiefungen 1 und 16 und Molekulargewichtsmarker in den Vertiefungen 2 und 15 zu haben.* |
| 10 | | Nachdem alle Proben geladen wurden, die Auswurftaste betätigen.<br><br>*Ergebnis:* Der Lader wird in die Elpho & scan Geräteeinheit eingefahren. |

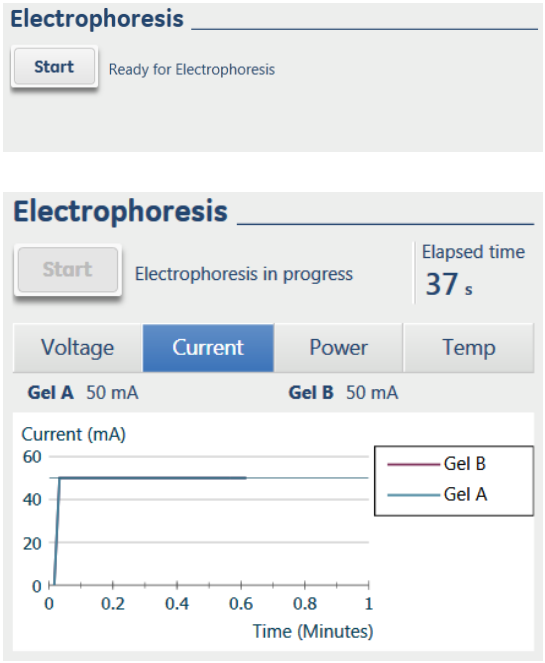
# 5.6.2 Ausführen der Elektrophorese

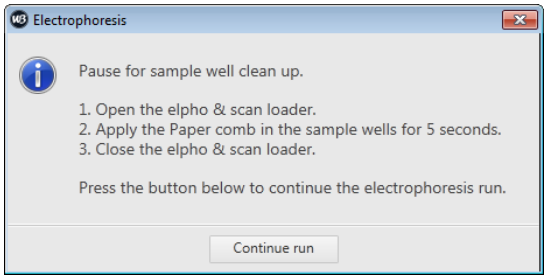
## Einführung

In diesem Abschnitt wird das Starten und Überwachen der Elektrophorese beschrieben.

## Starten und Überwachen von Elektrophorese und Gel-Scan

| Schritt | Abbildung des Schritts | Aktion des Bedieners |
|---|---|---|
| 1 | <br>  | • Im Arbeitsschritt ***ELECTROPHORESIS & GEL SCANNING*** (Elektrophorese und Gel-Scan) die Standardeinstellungen für die Elektrophorese und das Scannen von Gelkarten verwenden (siehe Bildschirmfoto).<br>• *Optional:* Die Option ***Pause for sample well cleanup after 5 minutes*** (Pause zur Reinigung des Probenbetts nach 5 Minuten) auswählen, wenn der Papierkamm verwendet werden soll. Weitere Informationen siehe *Abschnitt 3.6 Zubehörteile und Verbrauchsmaterialien für die Elektrophorese, auf Seite 67*. Der Zeitpunkt für die Pause wird aus den Einstellungen für Spannung und Stromstärke berechnet. Der Standardwert beträgt 5 Minuten.<br>• *Optional:* Im Feld ***Note*** (Anmerkung) eine Anmerkung zu den Gelkarten eingeben. |

| Schritt | Abbildung des Schritts | Aktion des Bedieners |
|---|---|---|
| 2 |  | Im Bereich ***Electrophoresis*** (Elektrophorese) auf ***Start*** (Starten) klicken.<br>*Ergebnis:* Der Elektrophoreselauf wird gestartet.<br>Der Fortschritt des Programmlaufs wird in den Diagrammen für Stromstärke, Spannung, Wirkung oder Temperatur angezeigt. Die verstrichene Zeit für den Programmlauf wird ebenfalls angezeigt.<br>***Tipp:***<br>*Während der Elektrophorese bleibt sich die Möglichkeit, die Puffer und Lösungen für die Western Schritte zuzubereiten. Informationen siehe Abschnitt 5.7.1 Zubereiten und Anschließen der Transferlösungen, auf Seite 149 und Abschnitt 5.8.1 Zubereiten und Anschließen der Sondierungs- und Antikörperlösungen, auf Seite 174.* |

| Schritt | Abbildung des Schritts | Aktion des Bedieners |
|---|---|---|
| 3 |  <br> | Wenn die Option ***Pause for sample well cleanup after 5 minutes*** (Pause zur Reinigung des Probenbetts nach 5 Minuten) ausgewählt wurde, die nachstehenden Anweisungen befolgen.<br>1 Den Lader öffnen.<br>2 Den Papierkamm in die Probenbetten setzen und für etwa 5 Sekunden dort belassen.<br>3 Den Lader schließen und den Programmlauf fortsetzen. |

# 5.6.3 Verfahren nach Elektrophorese und Gelkarten-Scan

## Einführung

In diesem Abschnitt wird das Entfernen der Gelkarte und das Reinigen der Elpho & scan Geräteeinheit nach der Elektrophorese beschrieben.

## Entfernen der Gelkarten

**ACHTUNG**

Nach der Elektrophorese oder nach dem Transfer (wenn das Transfer-Sandwich geöffnet und die PVDF Karte in das Sondierungsfach gelegt wurde) entsorgen Sie das Gel auf sichere Weise. Lesen Sie Sicherheitsdatenblätter (SDS/MSDS) der Gelkarte in Bezug auf Sicherheitshinweise in Bezug auf das Gel und die Entsorgung des Gels.

***Anmerkung:*** *Der Transferlauf muss innerhalb einer Stunde nach Abschluss der Elektrophorese gestartet werden.*

| Schritt | Maßnahme |
|---|---|
| 1 | Wenn die Elektrophorese bereit ist und die weiße Bereitschaftslampe am Gerätebedienfeld leuchtet, die Auswurftaste an der Elpho & scan Geräteeinheit betätigen.<br>*Ergebnis:* Der Lader wird ausgeworfen. |
| 2 | Den Dichtungsdeckel am Verschluss öffnen. |
| 3 | Die Gelkarte entfernen und mit der Oberseite nach unten auf den Arbeitstisch legen. |
| 4 | Mit *Reinigen der Elpho & scan Geräteeinheit, auf Seite 147* fortfahren.<br>***Anmerkung:***<br>*Es empfiehlt sich, die Elpho & scan Geräteeinheit nach jedem Programmlauf zu reinigen. Wenn die Zeit dies jedoch nicht erlaubt, mit dem Transfer fortfahren und die Geräteeinheit in einer späteren Phase des Experiments reinigen.* |

## Reinigen der Elpho & scan Geräteeinheit

| Schritt | Maßnahme |
|---|---|
| 1 | Die Pufferstreifenhalter aus dem Lader entfernen und die Pufferstreifen entsorgen. |
| 2 | Jegliche Flüssigkeit auf der Kartenplatte mit einem fusselfreien Tuch abwischen, das ggf. mit 50 % Ethanol angefeuchtet ist. |
| 3 | Jegliche Flüssigkeit und jeglichen Schmutz auf dem Schutzglas mit einem fusselfreien Tuch abwischen, das ggf. mit 50 % Ethanol angefeuchtet ist.<br>***Anmerkung:***<br>*Es ist wichtig, das Schutzglas sauber zu halten, um ein gutes Ergebnis beim Scannen von Gelkarten und PVDF Karten zu erzielen.* |
| 4 | Den Dichtungsdeckel schließen und die Auswurftaste an der Elpho & scan Geräteeinheit betätigen.<br>*Ergebnis:* Der Lader wird eingefahren. |
| 5 | Die Pufferstreifenhalter unter fließendem Wasser reinigen, um Salze und Puffer zu entfernen. Die Pufferstreifenhalter mit der Oberseite nach unten an der Luft trocknen lassen. |

## Fortsetzen mit dem Transfer

Führen Sie einen der folgenden Schritte durch:

- Wenn Transferlösungen zubereitet und an die Western Geräteeinheit angeschlossen wurden, mit den Anweisungen in *Abschnitt 5.7.2 Vorbereiten des Transfer-Sandwich, auf Seite 151*.

  andernfalls

- Mit den Anweisungen in *Abschnitt 5.7.1 Zubereiten und Anschließen der Transferlösungen, auf Seite 149* fortfahren.

# 5.7 Durchführen des Transfers

## Einführung

Dieser Abschnitt beschreibt, wie das Transfer-Sandwich vorbereitet wird, wie der Transferlauf gestartet und überwacht wird, sowie die Verfahren, die nach dem Transferlauf durchgeführt werden müssen.

## In diesem Abschnitt

Dieser Abschnitt enthält die folgenden Unterabschnitte:


| Abschnitt | Siehe Seite |
|---|---|
| 5.7.1 Zubereiten und Anschließen der Transferlösungen | 149 |
| 5.7.2 Vorbereiten des Transfer-Sandwich | 151 |
| 5.7.3 Ausführen des Transfers | 166 |
| 5.7.4 Verfahren nach dem Transfer | 170 |

# 5.7.1 Zubereiten und Anschließen der Transferlösungen

## Einführung

In diesem Abschnitt wird das Zubereiten und Anschließen von Puffern und Lösungen für den Transfer beschrieben.

Transferlösungen können während des Elektrophoreselaufs zubereitet werden und müssen vor dem Start des Transfers angeschlossen sein.

## Rezepturen für Transferlösungen

**ACHTUNG**

Das Amersham WB analyzer in einem Raum mit Absauganlage aufstellen, wenn Methanol oder andere Chemikalien verwendet werden, für die eine Entlüftung erforderlich ist.

**VORSICHT**

**Brandgefahr.** Keine Transferpufferlösungen verwenden, die mehr als 40 % Ethanol oder 40 % Methanol enthalten. Es wird empfohlen, in Transferpuffern lediglich 20 % Ethanol zu verwenden.

| Lösung | Rezeptur | Menge/Lauf |
|---|---|---|
| Transferpuffer | 25 mM Tris, 192 mM Glycin, 20 % Ethanol<br>pH-Wert 8,3<br>Im Transferpuffer kann Methanol statt Ethanol verwendet werden.<br>***Anmerkung:***<br>*Manche Ethanole besitzen Autofluoreszenz-Eigenschaften, die zu einem hohen Membranhintergrund führen. Sicherstellen, dass das beim Transfer verwendete Ethanol nicht autofluoreszierend ist.* | 1000 ml |
| Reinstwasser (zur Reinigung) | Reinstwasser | 1000 ml |

# Verbinden der Schläuche mit dem Transferpuffer und dem Reinstwasser auf dem Flaschengestell

**VORSICHT**

Um das Verspritzen von gefährlichen Flüssigkeiten zu vermeiden, in Flaschen starke Einlassfilter verwenden, die mit einem Schlauch verbunden sind.

Siehe *Abschnitt 3.8 Sonstige Zubehörteile, auf Seite 87* für Beschreibungen der Einlassfilter und Schlauchhalter. Siehe *Anbringen der Schlauchhalter, auf Seite 106* zur Befestigung des Zubehörs.

Die Schläuche vor dem Starten des Transfers wie folgt mit dem Transferpuffer und dem Reinstwasser (zur Reinigung des Transferbehälters) verbinden:

| Schritt | Maßnahme |
|---|---|
| 1 | Vom linken Schlauchturm legen Sie den Schlauch mit der Markierung **T Buffer** in eine 1000-ml-Flasche mit Transferpuffer. |
| 2 | Legen Sie die den Schlauch mit der Markierung **T Water** in eine 1000-ml-Flasche mit Reinstwasser. |

# 5.7.2 Vorbereiten des Transfer-Sandwich

## Erforderliche Materialien

Bei der Vorbereitung eines Transfer-Sandwiches werden die folgenden Verbrauchsmaterialien und Zubehörteile benötigt:

- 1 Transferhalter
- 1 Gelkarte nach ihrem Durchlauf
- 1 PVDF-Karte
- 2 Schwämme
- 2 Stück Transferpapier
- 1 Behälter mit Transferpuffer zum Anfeuchten der Transferpapierstücke
- 1 Behälter mit mindestens 96 % Ethanol für das Voranfeuchten der PVDF-Karte
- 1 Behälter mit Transferpuffer zur Equilibrierung der PVDF-Karte

***Anmerkung:*** *Manche Ethanole besitzen Autofluoreszenz-Eigenschaften, die zu einem hohen Membranhintergrund führen. Sicherstellen, dass das beim Transfer verwendete Ethanol nicht autofluoreszierend ist.*

## Vorsichtsmaßnahmen

**ACHTUNG**

Beim Umgang mit Gelkarten, PVDF-Karten und anderen Verbrauchsmaterialien, die im Lieferumfang des Amersham WB system enthalten sind, stets Handschuhe, Schutzkleidung und eine Schutzbrille tragen.

## Übersichtsabbildung für den Zusammenbau des Transfer-Sandwiches

Die nachstehende Abbildung bietet einen Überblick über das Zusammensetzen eines Transfer-Sandwiches.

Die nachstehende Tabelle beschreibt kurz den Vorgang der Vorbereitung eines Transfer-Sandwiches:

| Stufe | Beschreibung |
|---|---|
| 1 | Die PVDF-Karte wird vorab in Ethanol angefeuchtet und danach in Transferpuffer equilibriert. |
| 2 | Ein Schwamm wird auf das Unterteil des Transferhalters (schwarzer Deckel) gelegt. |
| 3 | Ein Transferpapier wird vorab in Transferpuffer angefeuchtet und dann in den Transferhalter gelegt. |
| 4 | Der Gelrahmen einschließlich des Gels mit getrennten Proteinen wird aus dem Gelrahmenträger genommen und in den Transferhalter gelegt. |
| 5 | Die PVDF-Karte wird im Transferhalter platziert. |
| 6 | Das zweite Transferpapier wird vorab in Transferpuffer angefeuchtet und dann in den Transferhalter gelegt. |
| 7 | Luftbläschen werden mithilfe des eingebauten Rollers im Transferhalter entfernt. |

| Stufe | Beschreibung |
|---|---|
| 8 | Ein zweiter Schwamm wird auf das Transferpapier gelegt. |
| 9 | Der Transferhalter wird geschlossen. |

## Vorbereiten der PVDF Karte

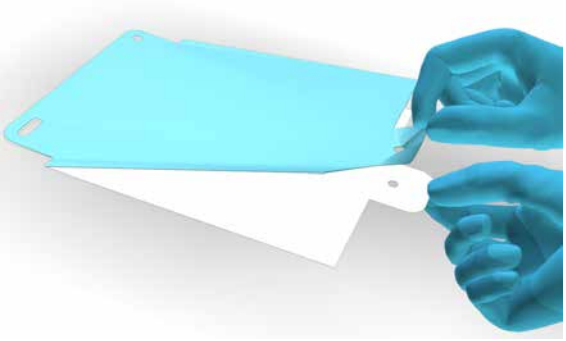
Die nachstehende Anweisung beschreibt, welche Vorbereitungen getroffen werden müssen, um ein Transfer-Sandwich zu bilden:

| Schritt | Maßnahme |
|---|---|
| 1 | Nehmen Sie eine PVDF Karten-Einzelpackung aus dem PVDF Kartenkasten. |

***Anmerkung:***

*Bewahren Sie die Packung für die Kennnummer der individuellen PVDF Karte und auch für die spätere Lagerung auf.*

| | |
|---|---|
| 2 | Nehmen Sie die PVDF Karte aus der Verpackung und entfernen Sie das erste blaue Schutzpapier. |

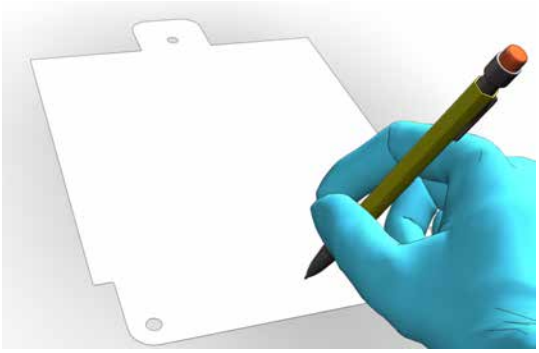


| Schritt | Maßnahme |
|---|---|
| 3 | *Optional:* |

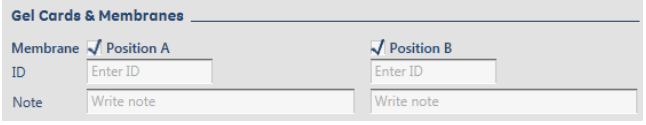
- Vor dem Entfernen des zweiten blauen Schutzpapiers bringen Sie eine Beschriftung (mit Bleistift) auf derPVDF Schreibfläche der Karte an.

  ***Tipp:***

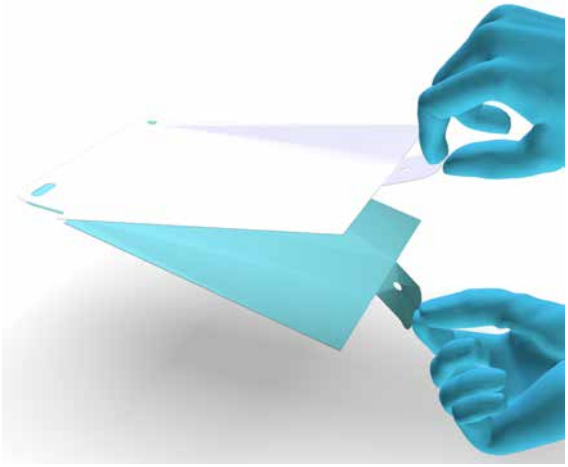
  *Auf der Schreibfläche kann die Position (A oder B) angegeben werden, auf der die PVDF-Karte verwendet wird.*



- In der Software den Arbeitsschritt ***TRANSFER*** auswählen. Den Cursor in das entsprechende Feld ***Note*** (Anmerkung) setzen und den Text eintippen.

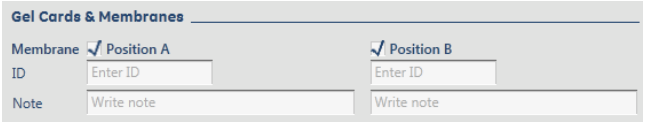


| Schritt | Maßnahme |
|---|---|
| 4 | Entfernen Sie das zweite blaue Schutzpapier. |

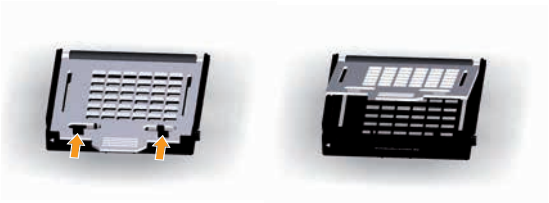


***Anmerkung:***

*Berühren Sie den Blotting-Bereich (mit einem roten Quadrat im Bild markiert) nicht mit den Fingern. Halten Sie die PVDF Karte an den Griffen.*

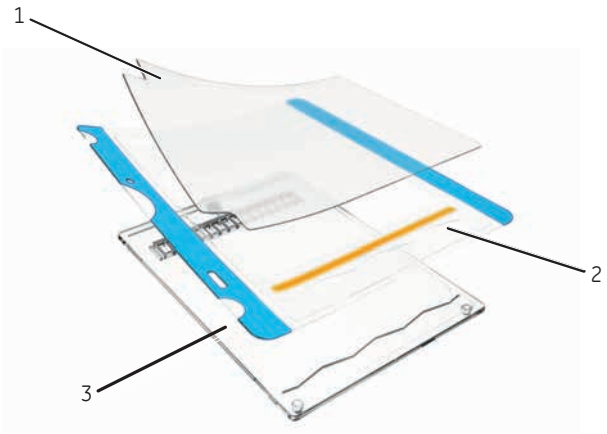
| Schritt | Maßnahme |
|---|---|
| 5 | *Optional:* Die PVDF-Karteninformationen in der Software eingeben.<br>• In der Software den Arbeitsschritt ***TRANSFER*** auswählen.<br>• Den Cursor im Bereich ***Gel Cards & Membranes*** (Gelkarten und Membranen) in das entsprechende ***ID***-Feld setzen.<br>• Tragen Sie die Kennnummer manuell ein oder scannen Sie den Data-Matrix-Tag auf der Markierung der PVDF Karten-Einzelpackung.<br> <br><br>• Um eine Anmerkung über die Membran einzugeben, den Cursor in das Feld ***Note*** (Anmerkung) setzen und eine Anmerkung eintippen.<br>***Tipp:***<br>*Die Chargennummer eintippen. Diese ist nicht in der Datenmatrix enthalten, sondern auf dem Etikett des Kartons mit den PVDF-Karten.*<br>  <br> |
| 6 | Erfassen Sie die PVDF Kartengriffe und befeuchten Sie die Karte im Ethanol, indem Sie sie für ca. 20 Sekunden in das Fach mit Ethanol legen. |
| 7 | Die Karte PVDF zum Transferpufferbehälter der PVDF-Karte verlagern und für mindestens 5 Minuten equilibrieren.<br>***Anmerkung:***<br>*Sicherstellen, dass die PVDF-Karte in diesem Zeitraum mit Transferpuffer bedeckt ist*. |

## Mit der Bildung des Transfer-Sandwiches beginnen

| Schritt | Abbildung des Schritts | Aktion des Bedieners |
|---|---|---|
| 1 |  | • Den Transferhalter mit der schwarzen Seite nach unten ablegen.<br>• Der Transferhalter öffnen. Hierzu auf die Verriegelungen drücken und den weißen Deckel anheben. |
| 2 | | • Den Deckel schieben, bis die Rollerstifte die zwei Aushöhlungen (im Bild mit orangefarbenen Kreisen gekennzeichnet) erreichen.<br>• Den weißen Deckel abnehmen. Hierzu den Deckel über die zwei Aushöhlungen anheben. |
| 3 | | Den ersten Schwamm auf den schwarzen Deckel legen. |
| 4 | | Ein Transferpapier in Transferpuffer vorbefeuchten und auf den Schwamm auf dem schwarzen Deckel legen (der Transferpapiergriff sollte zwischen den Führungsstiften liegen). |

## Übersichtsabbildung für die Zerlegung der Gelkarte

Die nachstehende Abbildung zeigt eine Explosionsdarstellung der Bestandteile der Gelkarte, die nach dem Elektrophoreselauf ausgebaut werden müssen.

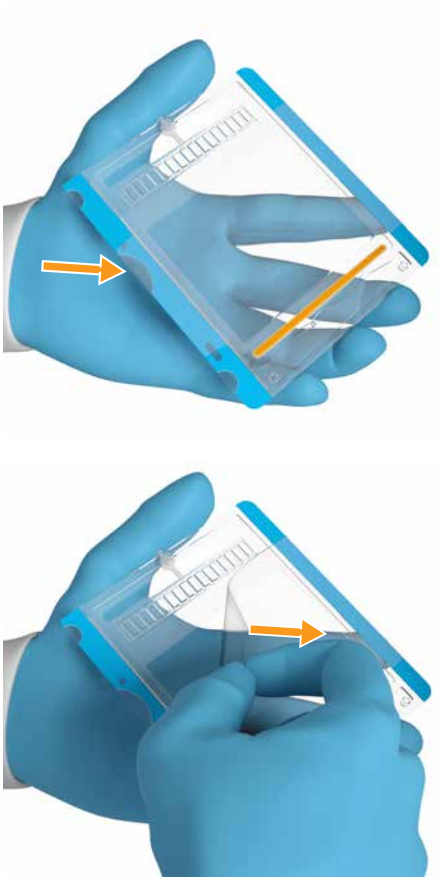


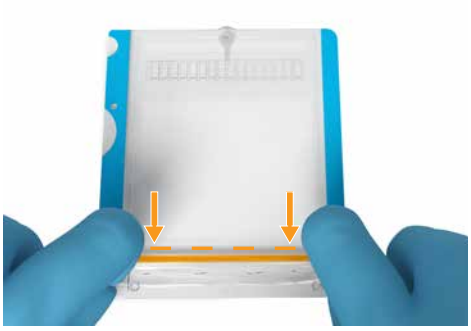
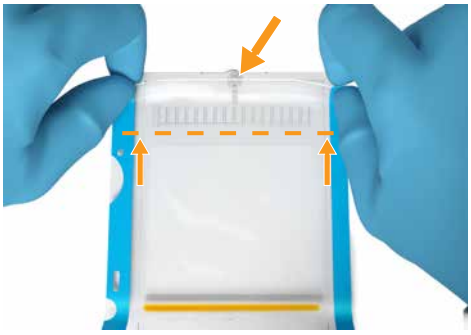

Die nachstehende Tabelle beschreibt kurz die Bestandteile der Gelkarte, die ausgebaut werden müssen.

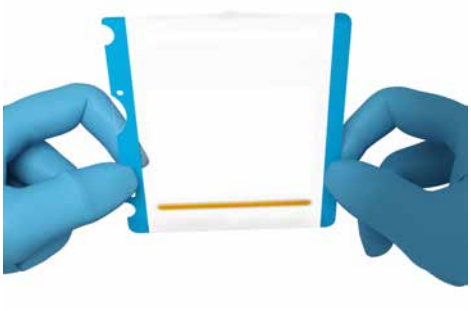
| Stufe | Beschreibung |
|---|---|
| 1 | Schutzfilm.<br>Dieser Film wird zuerst entfernt. |
| 2 | Gelrahmen<br>Die Seiten des Gelrahmens werden aus dem Gelrahmenträger vorgelöst (3 in der Abbildung) und dann vorsichtig entfernt. |
| 3 | Der Gelrahmenträger bleibt auf dem Arbeitstisch. |

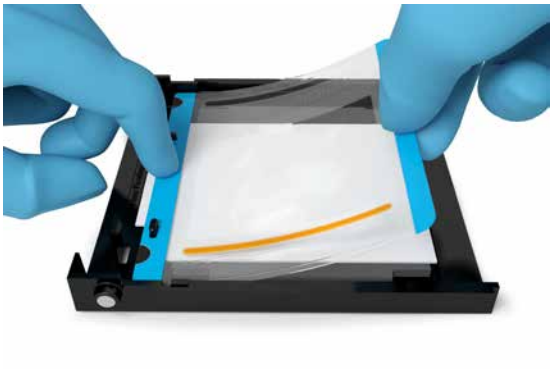
## Lösen des Gelrahmens aus dem Gelrahmenträger und Platzieren im Transferhalter

***Anmerkung:*** *Den Gelbereich (mit einem roten Kreis gekennzeichnet) beim Lösen des Gelrahmens nicht berühren.*

| Schritt | Abbildung des Schritts | Aktion des Bedieners |
|---|---|---|
| 1 |  | Die Gelkarte mit festem Griff halten. Den Schutzfilm entfernen. Hierzu das mit einem orangefarbenen Pfeil gekennzeichnete Ende ergreifen und **diagonal** in Pfeilrichtung ziehen. |

| Schritt | Abbildung des Schritts | Aktion des Bedieners |
|---|---|---|
| 2 | | Die Gelkarte entsprechend der Darstellung im Bild auf den Arbeitstisch legen (mit dem frei liegenden Gel nach oben weisend). |
| 3 |  | Die Ecken des unteren Gelrahmens ergreifen und den Gelrahmen zwischen den unteren Ecken so weit wie durch die gepunktete Linie und die Pfeile angezeigt lösen.<br>***Anmerkung:***<br>*Beim Lösen des Gels drücken Sie die Gel-Karte weiterhin mit den Fingern auf den Labortisch.* |
| 4 |  | Die Ecken des oberen Gelrahmens ergreifen und den Gelrahmen so weit wie durch die gepunktete Linie angezeigt lösen.<br>Sicherstellen, dass der Gelrahmen vollständig aus dem weißen Gummistecker (durch den oberen orangefarbenen Pfeil angezeigt) gelöst wurde. |

| Schritt | Abbildung des Schritts | Aktion des Bedieners |
|---|---|---|
| 5 | | Den Gelrahmen vorsichtig weiter in Richtung des unteren Endes von den Seiten der Gelkarte lösen, bis der Gelrahmen vollständig gelöst wurde.<br>***Anmerkung:***<br>*Beim Lösen des Gels drücken Sie die Gel-Karte weiterhin mit den Fingern auf den Labortisch.*<br>***Anmerkung:***<br>*Darauf achten, das Gel nicht zu berühren.* |
| 6 |  | Die Gelrahmengriffe ergreifen und das Gel vorsichtig aus dem Rahmenträger heben. |

| Schritt | Abbildung des Schritts | Aktion des Bedieners |
|---|---|---|
| 7 |  | Den Gelrahmen auf das Transferpapier legen. Hierzu die Führungslöcher am Gelrahmen an den Führungsstiften ausrichten und das Gel auf dem Transferpapier abrollen. |

## Die PVDF-Karte und die Bildung des Transfer-Sandwiches fertig stellen

| Schritt | Abbildung des Schritts | Aktion des Bedieners |
|---|---|---|
| 1 | | Erfassen Sie beide PVDF Kartengriffe mit den Fingern oder mit Hilfe einer Pinzette mit einem flachen Ende. Entfernen Sie die Karte aus der Transfer-Pufferwanne.<br>***Anmerkung:***<br>*Vermeiden Sie ein Berühren des Blotting-Bereichs der PVDF Karte (mit einem roten Quadrat in Bild markiert).* |
| 2 | | Legen Sie die PVDF Karte auf die Gelkarte, indem Sie die PVDF Kartenführungslöcher auf die Führungsstifte anpassen und die PVDF Karte auf dem Gel nach unten rollen.<br>***Anmerkung:***<br>*Korrigieren Sie die Platzierung der PVDF Karte nicht mehr, wenn sie auf der Gelkarte liegt.* |
| 3 | | Ein Transferpapier in Transferpuffer vorbefeuchten und auf die PVDF-Karte legen (der Transferpapiergriff sollte zwischen den Führungsstiften liegen). |

| Schritt | Abbildung des Schritts | Aktion des Bedieners |
|---|---|---|
| 4 | | Alle Luftbläschen wie folgt entfernen:<br>• Den weißen Deckel nehmen und in die zwei Aushöhlungen einsetzen (Bild links).<br>• Die Transferpapiergriffe mit der linken Hand ergreifen und den Roller mit der rechten Hand in den Halterschienen zur anderen Seite des Transferhalters ziehen. |
| 5 | | Den zweiten Schwamm auf das Transferpapier legen. |
| 6 | | Den Transferhalter schließen. Hierzu auf den Deckel drücken, bis die Verriegelungen einrasten. |

# 5.7.3 Ausführen des Transfers

## Einführung

Dieser Abschnitt beschreibt:

- wie der Transferhalter in den Transferbehälter geladen wird
- wie der Transfer gestartet und überwacht wird
- die Verfahren, die nach dem Transfer durchzuführen sind

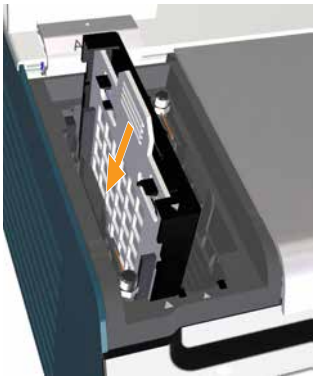
---

## Vor dem Transfer

Sicherstellen, dass der Transferpuffer und das Reinstwasser für den Transferlauf angeschlossen wurden. Weitere Informationen siehe *Verbinden der Schläuche mit dem Transferpuffer und dem Reinstwasser auf dem Flaschengestell, auf Seite 150*.

---

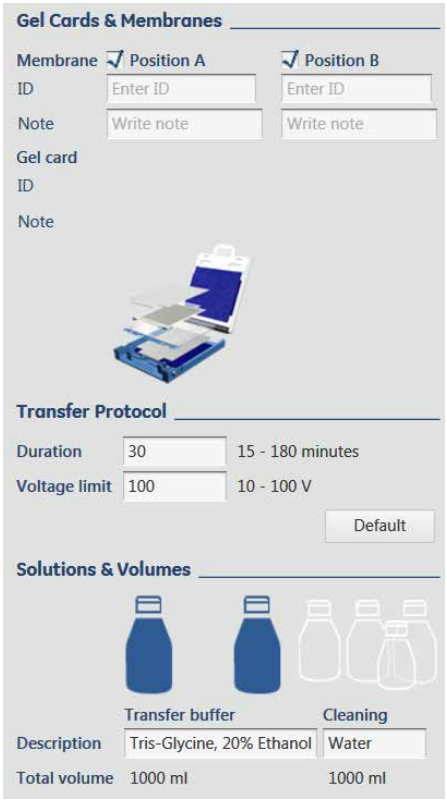
## Laden der Transfer-Sandwiches

| Schritt | Abbildung des Schritts | Aktion des Bedieners |
|---|---|---|
| 1 | | Den Deckel des Transferbehälters öffnen. |
| 2 |  | Die Transferhalter in den Behälter einsetzen. Sicherstellen, dass der weiße Pfeil in Richtung des Pfeils im Gerät (in Ihre Richtung) weist. |
| 3 | | Den Transferbehälterdeckel schließen. |

# Starten und Überwachen des Transfers

**VORSICHT**

**Stromschlaggefahr.** Einen laufenden Transferlauf stets stoppen, bevor Flüssigkeit vom Gerät oder Arbeitstisch aufgewischt wird.

| Schritt | Abbildung des Schritts | Aktion des Bedieners |
|---|---|---|
| 1 | | Im Hauptbildschirm der Software auf den Arbeitsschritt ***TRANSFER*** klicken. |
| 2 |  | Die Standardeinstellungen für das ***Transfer Protocol*** (Transferprotokoll) verwenden, die im Bildschirmfoto dargestellt sind. |

| Schritt | Abbildung des Schritts | Aktion des Bedieners |
|---|---|---|
| 3 | | Im Bereich ***Transfer*** auf ***Start*** (Starten) klicken.<br>***Anmerkung:***<br>*Während des Transferlaufs empfiehlt es sich, die Lösungen zuzubereiten und anzuschließen, die im Sondierungsschritt verwendet werden sollen.*<br>*Für weitere Informationen siehe Abschnitt 5.8.1 Zubereiten und Anschließen der Sondierungs- und Antikörperlösungen, auf Seite 174.* |

# 5.7.4 Verfahren nach dem Transfer

## Einführung

In diesem Abschnitt werden die Reinigungsverfahren beschrieben, die nach dem Transfer durchzuführen sind.

## Entfernen des/der Transferhalter(s)

| Schritt | Maßnahme |
|---|---|
| 1 | Den Transferbehälterdeckel öffnen. |
| 2 | Die Transferhalter entfernen. Die Transferhalter diagonal innen an der Vorderseite des Transferbehälters über der Flüssigkeit aufhängen. |

***Anmerkung:***

*Um das Austrocknen von Membranen zu vermeiden, die Transferhalter in diesem Schritt nicht öffnen.*

## Reinigen des Strömungswegs für Transfer

***Anmerkung:*** *Vor dem Fortsetzen der Reinigung den Transferhalter entfernen.*

| Schritt | Maßnahme |
|---|---|
| 1 | Wenn der Transfer abgeschlossen ist, wird das Dialogfeld ***Transfer Completed – Clean Transfer Flow Path*** (Transfer abgeschlossen - Strömungsweg für Transfer reinigen) angezeigt.<br><br>***Anmerkung:***<br>*Es empfiehlt sich, den Strömungsweg für Transfer nach einem Programmlauf zu reinigen.*<br>*Wenn Sie das Reinigung des Transferströmungswegs überspringen möchten, klicken Sie auf* ***Cancel*** *und fahren Sie fort mit Fortfahren mit der Sondierung, auf Seite 172. Denken Sie jedoch daran, den Transferströmungsweg in einer späteren Phase des Experiments zu reinigen. Die Reinigung kann durchgeführt werden durch Auswahl von* ***Control:Clean Transfer flow path*** *in der Menüleiste.*<br>*Wenn die Reinigung übersprungen wurde, muss der Transferströmungsweg manuell entleert werden durch Auswahl von,* ***Empty Transfer tank*** *im* ***Control*** *Menü.* |
| 2 | Den **T Buffer** Schlauch zu der Wasserflasche mit 1000 ml Reinstwasser umsetzen (zusammen mit dem **T Water** Schlauch). |
| 3 | Im Dialogfeld ***Transfer Completed – Clean Transfer Flow Path*** (Transfer abgeschlossen - Strömungsweg für Transfer reinigen) auf ***Start clean*** (Reinigung starten) klicken.<br>Die Reinigung wird gestartet und nimmt etwa 9 Minuten in Anspruch.<br><br>***Anmerkung:***<br>*Die Sondierung kann während der Reinigung des Strömungswegs für Transfer gestartet werden (siehe Fortfahren mit der Sondierung, auf Seite 172).* |
| 4 | Die Lösung in die Wasserflasche entsorgen und den Schlauch in eine leere Flasche führen. |
| 5 | Den oberen Teil des Transferbehälterinneren mit einem feuchten fusselfreien Tuch abwischen. |
| 6 | Alle verbliebenen sichtbaren Partikel, Fasern und Gelstücke mit einer Pinzette entfernen. |

## Reinigen des Transferhalters

**ACHTUNG**

Nach der Elektrophorese oder nach dem Transfer (wenn das Transfer-Sandwich geöffnet und die PVDF Karte in das Sondierungsfach gelegt wurde) entsorgen Sie das Gel auf sichere Weise. Lesen Sie Sicherheitsdatenblätter (SDS/MSDS) der Gelkarte in Bezug auf Sicherheitshinweise in Bezug auf das Gel und die Entsorgung des Gels.

***Anmerkung:*** *Führen Sie diesen Schritt durch, wenn das Transfer-Sandwich geöffnet wurde und die PVDF Karte in die Sondierungskammer gelegt wurde.*

| Schritt | Maßnahme |
|---|---|
| 1 | Entfernen Sie das Gel aus dem Transfer-Sandwich. Entsorgen Sie das Gel nach den Anweisungen in den SDS/MSDS und lokalen Verfahren für den Umgang mit Abfällen. |
| 2 | Die Schwämme und Transferpapierstücke entfernen und entsorgen. |
| 3 | Reinigen Sie die verschiedenen Teile des Transferhalters unter fließendem Wasser. |
| 4 | Den Transferhalter an der Luft trocken lassen. |

## Fortfahren mit der Sondierung

Führen Sie einen der folgenden Schritte durch:

- Wenn Sondierungs- und Antikörperlösungen zubereitet und an die Western Geräteeinheit angeschlossen wurden, mit den Anweisungen in *Abschnitt 5.8.2 Ausführen der Sondierung, auf Seite 178* fortfahren

  andernfalls

- Mit den Anweisungen in *Abschnitt 5.8.1 Zubereiten und Anschließen der Sondierungs- und Antikörperlösungen, auf Seite 174* fortfahren

# 5.8 Durchführen von Sondierung und Trocknung

## Einführung

In diesem Abschnitt wird die Durchführung der Sondierung und der Trocknung beschrieben.

## In diesem Abschnitt

Dieser Abschnitt enthält die folgenden Unterabschnitte:


| Abschnitt | Siehe Seite |
|---|---|
| 5.8.1 Zubereiten und Anschließen der Sondierungs- und Antikörperlösungen | 174 |
| 5.8.2 Ausführen der Sondierung | 178 |
| 5.8.3 Verfahren nach der Sondierung | 183 |
| 5.8.4 Ausführen der Trocknung | 187 |

# 5.8.1 Zubereiten und Anschließen der Sondierungs- und Antikörperlösungen

## Einführung

In diesem Abschnitt wird beschrieben, wie Puffer und Lösungen für den Sondierungslauf zubereitet und angeschlossen werden.

Sondierungs- und Antikörperlösungen können während des Transferlaufs zubereitet werden und müssen vor dem Start des Sondierungslaufs angeschlossen sein.

## Rezepturen für Sondierungs- und Antikörperlösungen

| Lösung | Rezeptur | Menge/Lauf |
|---|---|---|
| Blockierungslösung | Das System ist mit den meisten Blockierungslösungen kompatibel, z. B. 2 % ECL PRIME-Agens in PBS-T (0,1 % Tween™-20 in 1×PBS) oder 5 % bovines Serumalbumin in PBS.<br>Blockierungslösungen mit geringer Autofluoreszenz verwenden, Empfehlungen siehe das Handbuch *Western Blotting – Principles and Methods*. | 70 ml |
| Waschpuffer | PBS-T (0,1 % Tween-20 in 1×PBS) | 560 ml |
| Abschließender Waschpuffer | PBS pH-Wert 7,4 | 290 ml |
| Antikörperlösung | Antikörper in PBS-T (0,1 % Tween-20 in 1×PBS).<br>Informationen zur Bestimmung der optimalen Antikörperkonzentrationen finden Sie im Amersham WB system User Manual. | 5 bis 12 ml |
| Reinstwasser (verwendet zur Spülung zwischen Sondierungsschritten und zur Reinigung des Strömungswegs für Sondierung) | Reinstwasser | 760 ml |

## Verbinden der Schläuche mit dem Sondierungslösungen auf dem Flaschengestell

**VORSICHT**

Um das Verspritzen von gefährlichen Flüssigkeiten zu vermeiden, in Flaschen starke Einlassfilter verwenden, die mit einem Schlauch verbunden sind.

Siehe *Abschnitt 3.8 Sonstige Zubehörteile, auf Seite 87* für Beschreibungen der Einlassfilter und Schlauchhalter. Siehe *Anbringen der Schlauchhalter, auf Seite 106* zur Befestigung des Zubehörs.

Vor dem Starten der Sondierung die Schläuche aus dem mittleren und rechten Schlauchschaft wie folgt mit den im Sondierungslauf verwendeten Lösungen verbinden:

| Schritt | Maßnahme |
|---|---|
| 1 | Den Schlauch aus dem mittleren Schlauchschaft, der mit<br>• **P Water** gekennzeichnet ist, in eine 1000-ml-Flasche mit Reinstwasser führen<br>• **P Block** gekennzeichnet ist, in eine 100-ml-Flasche mit Blockierungslösung führen |
| 2 | Den Schlauch aus dem rechten Schlauchschaft, der mit<br>• **P Wash** in eine 1000-ml-Flasche mit Waschlösung (PBS-T)<br>• **P Final Wash** gekennzeichnet ist, in eine 500-ml-Flasche mit abschließender Waschlösung (PBS) führen |
| 3 | Die Röhrchen mit Antikörperlösung vor dem Starten der Sondierung im Antikörperfach anschließen (Informationen siehe unten). |

## Anschließen der Röhrchen mit Antikörperlösung

***Anmerkung:*** *Die Antikörperlösungen sollten nahe am Zeitpunkt des Sondierungsstarts zubereitet und angeschlossen werden.*

| Schritt | Maßnahme |
|---|---|
| 1 | Das Antikörperfach an der Western Geräteeinheit öffnen. Hierzu auf das Auswurfsymbol auf dem Deckel des Antikörperfachs drücken. |

| Schritt | Maßnahme |
|---|---|

2 Jedes Röhrchen mit Antikörperlösung in die passende Position bringen. Hierzu den Schlauch in das Röhrchen führen und das Röhrchen einrasten lassen.

In der nachstehenden Tabelle wird erläutert, welche Antikörper in welcher Position für Antikörperröhrchen im Antikörperfach platziert werden.

| Position | Beschreibung |
|---|---|
| **A PRIMARY** | Position für primäre Antikörper, die auf die Membran in Position A in der Sondierungskammer gelenkt werden. |
| **A SECONDARY** | Position für sekundäre Antikörper, die auf die Membran in Position A in der Sondierungskammer gelenkt werden. |
| **B PRIMARY** | Position für primäre Antikörper, die auf die Membran in Position B in der Sondierungskammer gelenkt werden. |
| **B SECONDARY** | Position für sekundäre Antikörper, die auf die Membran in Position B in der Sondierungskammer gelenkt werden. |

3 Den Deckel des Antikörperfachs schließen.

***Anmerkung:*** *Für jede Membran gibt es ein Antikörperröhrchen für die primären Antikörper und eines für die sekundären Antikörper. Das bedeutet zum Beispiel, wenn zwei primäre Antikörper für die Markierung der Membran in **Position A** ausgewählt werden, werden sie zusammen in dem gleichen Antikörperröhrchen gemischt und in Position gebracht **A PRIMARY**.*

# 5.8.2 Ausführen der Sondierung

## Einführung

In diesem Abschnitt wird beschrieben wie:

- legen Sie die PVDF Karten in die Sondierungskammern
- die Sondierung gestartet und überwacht wird

## Vorsichtsmaßnahmen

**ACHTUNG**

Nach der Elektrophorese oder nach dem Transfer (wenn das Transfer-Sandwich geöffnet und die PVDF Karte in das Sondierungsfach gelegt wurde) entsorgen Sie das Gel auf sichere Weise. Lesen Sie Sicherheitsdatenblätter (SDS/MSDS) der Gelkarte in Bezug auf Sicherheitshinweise in Bezug auf das Gel und die Entsorgung des Gels.

**VORSICHT**

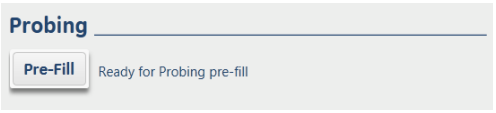
**Quetschgefahr.** Die bewegte Sondierungskammer während eines Programmlaufs nicht berühren.

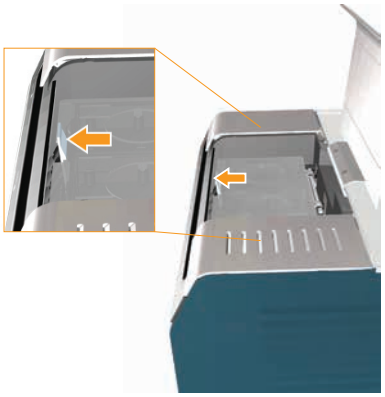
## Vor der Sondierung

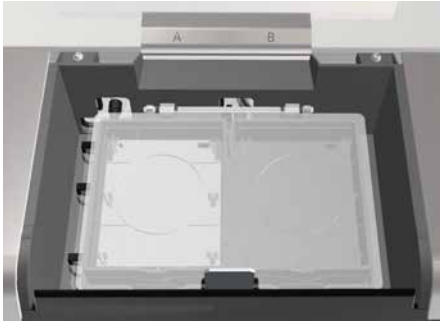
Sicherstellen, dass Puffer, Reinstwasser, Antikörper-, Blockierungs- und Waschlösungen vor dem Starten der Sondierung angeschlossen sind.

***Anmerkung:*** *Reinstwasser muss stets angeschlossen sein, da es zum Spülen zwischen den Sondierungsschritten verwendet wird. Waschlösung wird zum Spülen zwischen primären Antikörpern zur Positionierung verwendet **A** und **B**.*

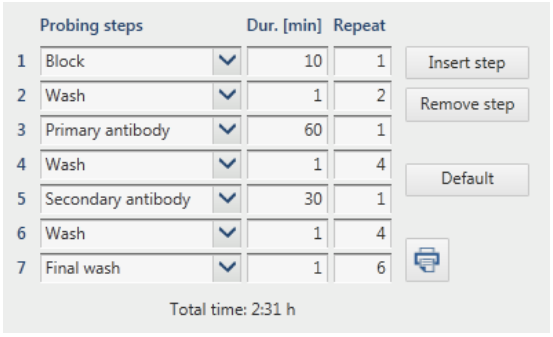
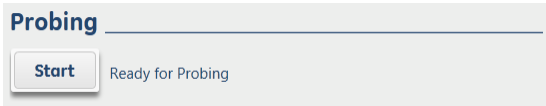
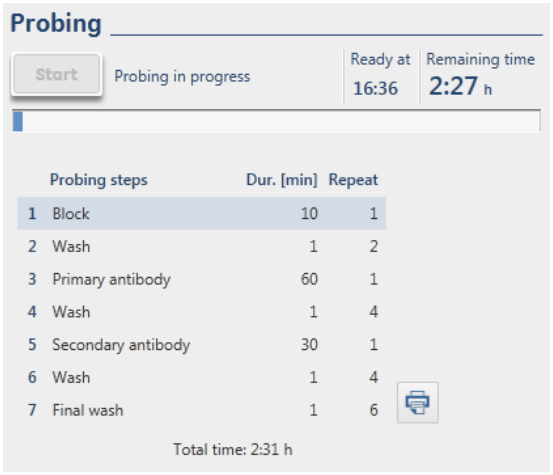
## Vorfüllen der Sondierungskammer und Laden der PVDF-Karten

| Schritt | Abbildung des Schritts | Aktion des Bedieners |
|---|---|---|
| 1 | <br>  | Die Sondierungskammer vorfüllen:<br>• In der Software auf den Arbeitsschritt ***PROBING & DRYING*** (Sondierung und Trocknung) klicken.<br>• Im Bereich ***Probing*** (Sondierung) auf ***Pre-Fill*** (Vorfüllen) klicken.<br>*Ergebnis:* Die Sondierungskammer ist mit wenigen Millilitern der ersten Lösung in der Sondierungsfolgentabelle (standardmäßig die Blockierungslösung) gefüllt.<br>***Anmerkung:***<br>*Nach dem Vorfüllen der Sondierungskammer:*<br>• *Es ist nicht mehr möglich, den Typ des ersten Schritts in der Sondierungssequenztabelle zu ändern. Die Einträge* ***Dur. [min]*** *(Dauer) und* ***Repeat*** *(Wiederholen) können bearbeitet werden.*<br>• *Die Schaltfläche* ***Pre-Fill*** *(Vorfüllen) wechselt zur Schaltfläche* ***Start*** *und die Statusmeldung* ***Ready for Probing*** *(Bereit zur Sondierung) wird angezeigt.* |

| Schritt | Abbildung des Schritts | Aktion des Bedieners |
|---|---|---|
| 2 |  | Öffnen Sie den Deckel des Sondierungsfachs und verwenden Sie die Verriegelung, um den Deckel der Sondierungskammer zu öffnen. |
| 3 | | Den Transferhalter öffnen und den Schwamm und das Transferpapier oben auf der PVDF-Karte abnehmen. |
| 4 | | • Entfernen Sie die PVDF Karte aus dem Transferhalter. Halten Sie die PVDF Kartengriffe mit den Fingern oder mit Hilfe einer Pinzette mit einem flachen Ende.<br>• Legen Sie die PVDF Karte in die Sondierungskammer, siehe Schritt 5.<br>• Informationen zur Reinigung des Transferhalters und zum Umgang mit Abfall siehe *Reinigen des Transferhalters, auf Seite 172*. |

| Schritt | Abbildung des Schritts | Aktion des Bedieners |
|---|---|---|
| 5 | | Die PVDF-Karte in der vorgefüllten Sondierungskammer platzieren. Hierzu die PVDF-Kartenlöcher über den Führungsstiften (mit orangefarbenen Kreisen gekennzeichnet) ausrichten und die PVDF-Karte in der Sondierungskammer abrollen.<br>***Anmerkung:***<br>*Achten Sie darauf, den Blotting-Bereich der PVDF Karte nicht zu berühren.* |
| 6 |  | Schließen Sie den Deckel der Sondierungskammer und den Deckel des Sondierungsfachs. Der Deckel der Sondierungskammer muss mit dem Riegel verriegelt sein. |

## Starten und Überwachen der Sondierung

| Schritt | Abbildung des Schritts | Aktion des Bedieners |
|---|---|---|
| 1 | | In der Software auf den Arbeitsschritt ***PROBING & DRYING*** (Sondierung und Trocknung) klicken. |
| 2 |  | Die Standardeinstellungen für die ***Probing steps*** (Sondierungsschritte) im Bereich ***Probing*** (Sondierung) verwenden, die im Bildschirmfoto dargestellt sind. |
| 3 |  <br>  | Auf ***Start*** klicken.<br>*Ergebnis:* Die Sondierung wird gestartet.<br>Der laufende Sondierungsschritt wird im Bereich ***Probing*** (Sondierung) angezeigt. |

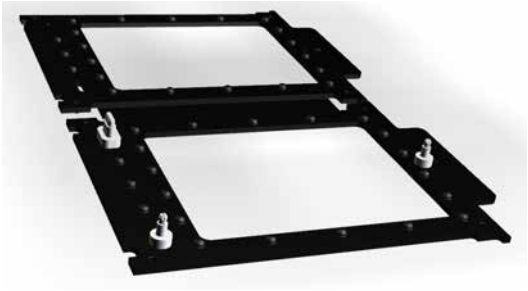
# 5.8.3 Verfahren nach der Sondierung

## Einführung

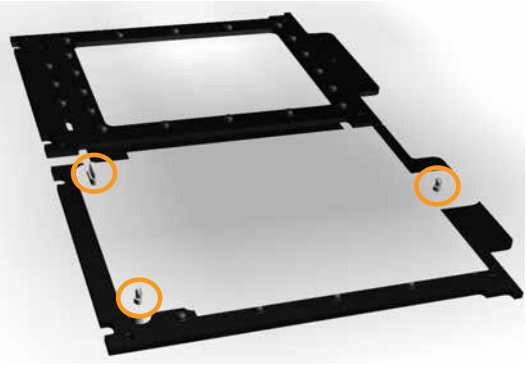
In diesem Abschnitt wird beschrieben wie:

- legen Sie die PVDF Karte in den Trocknungshalter
- legen Sie den Trocknungshalter in das Trocknungsfach und beginnen Sie mit dem Trocknen
- der Strömungsweg für Sondierung gereinigt wird

## Verlagern der PVDF-Karte(n) zum Trocknungsfach

| Schritt | Maßnahme |
|---|---|
| 1 | Entfernen Sie einen Amersham WB drying holder (Trocknungshalter) aus dem Trockenfach und öffnen Sie ihn.  |
| 2 | Erfassen Sie die PVDF Kartengriffe mit den Fingern oder verwenden Sie eine Pinzette mit einem flachen Ende und heben Sie die PVDF Karte aus der Sondierungskammer. |

| Schritt | Maßnahme |
|---|---|
| 3 | Legen Sie die PVDF Karte in den Trocknungshalter, indem Sie die PDVF Kartenlöcher über die drei Führungsstifte anpassen. |



| | |
|---|---|
| 4 | Schließen Sie den Trocknungshalter. Der Trocknungshalter muss mit dem Riegel verriegelt sein. |

| Schritt | Maßnahme |
|---|---|
| 5 | Legen Sie den/die Trocknungshalter in die entsprechende Position in der Trocknungskammer (d. h. PVDF Karte in der Sondierungsposition **A** zur Trocknungsposition **A**). |

## Reinigen des Strömungswegs für Sondierung

***Anmerkung:*** *Bevor Sie mit der Reinigung fortfahren, bewegen Sie die PVDF Karte(n) in die Trocknungskammer (Anweisungen siehe oben).*

| Schritt | Maßnahme |
|---|---|
| 1 | Wenn die Sondierung abgeschlossen ist, wird das Dialogfeld ***Probing Completed – Clean Probing Flow Path*** (Sondierung abgeschlossen - Strömungsweg für Sondierung reinigen) angezeigt.<br><br>***Anmerkung:***<br>*Es empfiehlt sich, den Strömungsweg für Sondierung nach einem Programmlauf zu reinigen.*<br>*Wenn Sie das Reinigung des Sondierungsströmungswegs überspringen möchten, klicken Sie auf* ***Cancel*** *und fahren Sie fort mit Abschnitt 5.8.4 Ausführen der Trocknung, auf Seite 187. Denken Sie jedoch daran, den Sondierungsströmungsweg in einer späteren Phase des Experiments zu reinigen. Die Reinigung kann durchgeführt werden durch Auswahl von* ***Control:Clean Probing flow path*** *in der Menüleiste.*<br>*Wenn die Reinigung übersprungen wurde, muss der Sondierungsströmungsweg manuell entleert werden durch Auswahl von,* ***Empty Probing chamber*** *im* ***Control*** *Menü.* |

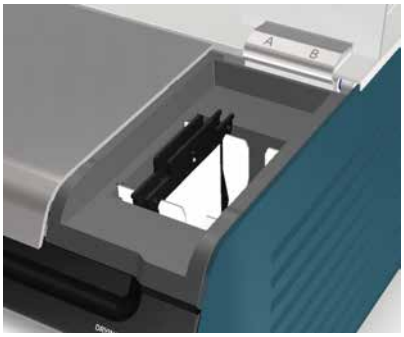
| Schritt | Maßnahme |
|---|---|
| 2 | Neue leere Röhrchen mit Antikörperlösung in das Antikörperfach einsetzen.<br><br>***Anmerkung:***<br>*Stets **vier** neue leere Röhrchen einsetzen.* |
| 3 | Die Sondierungsschläuche **P Block**, **P Wash** und **P Final Wash** mit einem feuchten Taschentuch abwischen und in die Flasche mit Reinstwasser (mit dem **P Water** Schlauch) umsetzen.<br><br>Im Softwaredialogfeld die Menge Reinstwasser überprüfen, die für die Reinigung erforderlich ist, und sicherstellen, dass die Flasche mindestens diese Menge Wasser enthält. |
| 4 | Im Dialogfeld ***Probing completed – clean probing system*** (Sondierung abgeschlossen - Sondierungssystem reinigen) auf ***Start clean*** (Reinigung starten) klicken.<br><br>Die Reinigung wird begonnen und dauert etwa 13 Minuten.<br><br>***Anmerkung:***<br>*Das Trocknen der Membranen kann während der Reinigung des Strömungswegs für Sondierung gestartet werden.* |
| 5 | Nach Abschluss der Reinigung die Lösung in der Flasche mit Wasser entsorgen und das Abwasser in die Antikörperlösungs-Röhrchen entsorgen. Die Schläuche in einer leeren Flasche platzieren. |

# 5.8.4 Ausführen der Trocknung

## Einführung

Dieser Abschnitt beschreibt, wie die Trocknung von PDVF Karten durchzuführen ist. Die Trocknung der PVDF Karte ergibt einen gleichmäßigen und schwachen Hintergrund sowie stärkere Signale.

## Ausführen der Trocknung

| Schritt | Abbildung des Schritts | Aktion des Bedieners |
|---|---|---|
| 1 |  | Die Trocknungshalter mit einer oder mehreren PVDF Karten müssen im Trocknungsraum in das richtige Trocknungsfach und in die richtige Position gelegt werden (d. h. PVDF Karte in die Sondierungsposition A zur Trocknungsposition A). |
| 2 | <br> | Im Arbeitsschritt ***PROBING & DRYING*** (Sondierung und Trocknung) der Software im Bereich ***Drying*** (Trocknen) auf ***Start*** (Starten) klicken. |

| Schritt | Abbildung des Schritts | Aktion des Bedieners |
|---|---|---|
| 3 | | Nach Abschluss der Trocknung:<br>• Den Deckel des Trocknerfachs öffnen.<br>• Entfernen Sie den/die Trocknungshalter.<br>• Die PVDF Karte ist bereit zum Scannen. Fahren Sie mit dem *Abschnitt 5.9 Scannen der Membran und Anzeigen der Ergebnisse, auf Seite 189*.<br>***Anmerkung:***<br>*Wenn die Membranen nicht vollkommen trocken sind, im Bereich **Drying** (Trocknen) auf **Start** (Starten) klicken, um einen neuen Trocknungslauf durchzuführen.* |

# 5.9 Scannen der Membran und Anzeigen der Ergebnisse

## Einführung

In diesem Abschnitt wird beschrieben, wie:

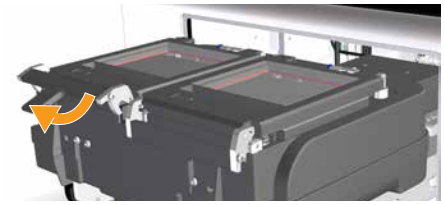
- legen Sie die PVDF Karte in die Elpho & scan Einheit.
- das Scannen gestartet und überwacht wird
- die Ergebnisse des Scans angezeigt werden

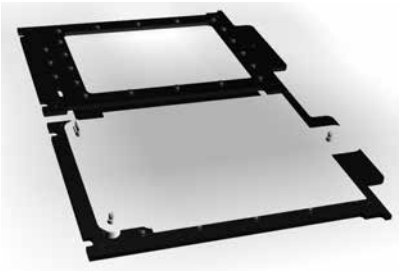
## Platzieren der PVDF-Karte im Lader

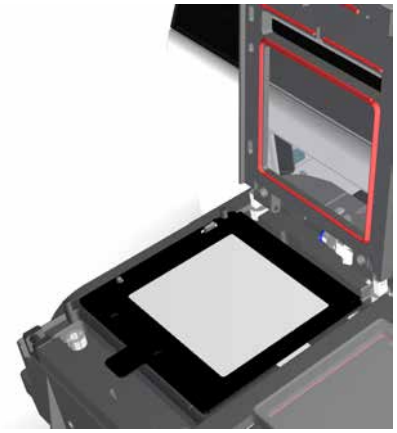
**VORSICHT**

**Bewegliche Teile.** Beim Öffnen/Schließen des Laders darauf achten, dass Finger oder Kleidung nicht eingeklemmt werden, wenn der Lader sich bewegt.

Flaschen oder Fläschchen niemals vor die Elpho & scan Geräteeinheit stellen. Sie könnten beim Öffnen des Laders herunterfallen.

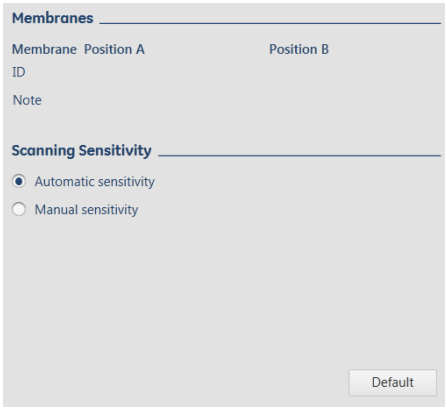
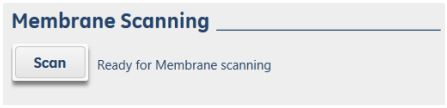
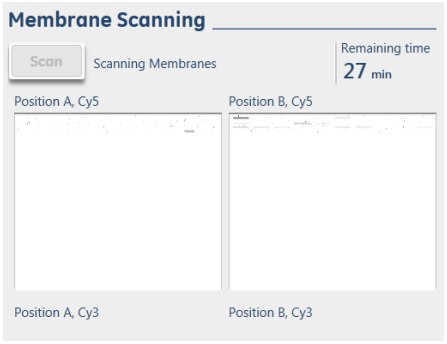
| Schritt | Abbildung des Schritts | Aktion des Bedieners |
|---|---|---|
| 1 | | Die Auswurftaste an der Elpho & scan Geräteeinheit betätigen.<br> <br>*Ergebnis:* Der Lader wird ausgeworfen. |
| 2 |  | • Die Verriegelungen nach oben drehen und den Dichtungsdeckel öffnen.<br>• Jegliche Flüssigkeit und jeglichen Schmutz auf dem Schutzglas der Kartenplatte mit einem fusselfreien Tuch abwischen. |

| Schritt | Abbildung des Schritts | Aktion des Bedieners |
|---|---|---|
| 3 | | • Einen Membranadapter aus dem Antikörperfach der Western Geräteeinheit nehmen.<br><br>***Anmerkung:***<br><br>*Sicherstellen, dass der Membranadapter trocken und sauber ist.*<br><br>• Den Membranadapter öffnen und auf der Kartenplatte platzieren. Hierzu die Führungslöcher im Membranadapter über den Führungsstiften ausrichten.<br><br>***Anmerkung:***<br><br>*Darauf achten, die Kartenplatte nicht mit scharfen Gegenständen zu zerkratzen.* |
| 4 |  | Öffnen Sie den Trocknungshalter. |
| 5 | | Entfernen Sie die PVDF Karte aus dem Trocknungshalter und legen Sie die Karte in den Membranadapter, indem Sie die Führungslöcher auf die Führungsstifte stecken.<br><br>***Anmerkung:***<br><br>*Achten Sie darauf, den Blotting-Bereich der PVDF Karte nicht zu berühren.* |

| Schritt | Abbildung des Schritts | Aktion des Bedieners |
|---|---|---|
| 6 |  | Den Membranadapter schließen. |
| 7 | | Den Dichtungsdeckel schließen. |
| 8 | | Die Auswurftaste an der Elpho & scan Geräteeinheit betätigen.<br>*Ergebnis:* Der Lader wird geschlossen. |

## Starten und Überwachen des Membran-Scans

| Schritt | Abbildung des Schritts | Aktion des Bedieners |
|---|---|---|
| 1 | | In der Software auf den Arbeitsschritt ***MEMBRANE SCANNING*** (Membran-Scan) klicken. |

| Schritt | Abbildung des Schritts | Aktion des Bedieners |
|---|---|---|
| 2 |  | Die Standardeinstellungen für Membran-Scans verwenden, die im Bildschirmfoto dargestellt sind. |
| 3 |  | Im Bereich ***Membrane Scanning*** (Membran-Scan) auf ***Scan*** (Scannen) klicken.<br>*Ergebnis:* Der Membran-Scan wird gestartet. |
| 4 |  | Der Fortschritt der Scans wird im Bereich ***Membrane Scanning*** (Membran-Scan) angezeigt.<br>Nach Abschluss des Scans werden die Membranbilder im Bereich ***Membrane Scanning*** (Membran-Scan) angezeigt. |

## Die Ergebnisse anzeigen

| Schritt | Maßnahme |
|---|---|
| 1 | In der Software auf den Arbeitsschritt ***EVALUATION*** (Auswertung) klicken.<br>*Ergebnis:* Die Bilder im Bereich ***Membrane Scanning*** (Membran-Scan) werden ausgewertet. Der Fortschritt der Auswertung wird in einem Fortschrittsbalken angezeigt. |

| Schritt | Maßnahme |
|---|---|
| 2 | Nach Auswertung der Bilder werden die Bilder im Bildschirm Evaluation (Auswertung) angezeigt, der die normalisierten Werte für das Experiment auf der Registerkarte ***Bar chart*** (Balkendiagramm) zeigt.<br>Weitere Informationen über die Analyse der Ergebnisse finden Sie im *User Manual* oder *software help*. |

## Verfahren nach dem Membran-Scan

| Schritt | Maßnahme |
|---|---|
| 1 | Die Auswurftaste an der Elpho & scan Geräteeinheit betätigen.<br>*Ergebnis:* Der Lader wird ausgeworfen. |
| 2 | Den Dichtungsdeckel öffnen. |
| 3 | Den Membranadapter mit der PVDF-Karte von der Kartenplatte entfernen. |
| 4 | Die PVDF-Karte vom Membranadapter entfernen.<br>***Tipp:***<br>*Die PVDF Karte kann in getrocknetem Zustand zwischen zwei Filterpapiere in der originalen PVDF Karten-Einzelpackung aufbewahrt werden. Die Signale auf der getrockneten PVDF Karte sind für ca. 3 Monate haltbar.* |
| 5 | Die Membranadapter mit einem fusselfreien Tuch reinigen und in den Lagerungsbereich im Antikörperfach zurücklegen. |
| 6 | Reinigen Sie die Trocknungshalter mit einem fusselfreien Tuch und legen Sie die Halter in den Trocknungsraum zurück. |
| 7 | Die Kartenplatte mit einem fusselfreien Tuch abwischen, das ggf. mit 50 % Ethanol angefeuchtet ist. |
| 8 | Das Schutzglas mit einem fusselfreien Tuch abwischen, das ggf. mit 50 % Ethanol angefeuchtet ist.<br>***Anmerkung:***<br>*Es ist wichtig, das Schutzglas sauber zu halten, um beim Scannen von Gelkarten und PVDF-Karten ein gutes Ergebnis erzielen zu können.* |
| 9 | Den Dichtungsdeckel schließen und die Auswurftaste an der Elpho & scan Geräteeinheit betätigen.<br>*Ergebnis:* Der Lader wird eingefahren. |

# 6 Wartung

## Zu diesem Kapitel

Dieser Abschnitt listet die regelmäßigen Wartungsarbeiten auf, die durch den Benutzer des Amersham WB analyzer durchgeführt werden müssen, sowie die Wartungsarbeiten, die bei Bedarf durchgeführt werden müssen.

## Vorsichtsmaßnahmen

**ACHTUNG**

Das Amersham WB analyzer-Instrument keinesfalls verwenden, wenn es nicht ordnungsgemäß funktioniert bzw. beschädigt wurde, zum Beispiel:

- Beschädigung des Netzkabels oder Steckers
- Beschädigung durch Fallenlassen des Geräts
- Beschädigung an anderen Teilen, die die Funktion beeinträchtigen kann

**ACHTUNG**

**Stromschlaggefahr.** Alle Reparaturen müssen von Servicepersonal durchgeführt werden, das von GE autorisiert ist. Öffnen Sie keine Abdeckungen oder Ersatzteile, es sei denn, dies ist in der Benutzerdokumentation ausdrücklich angegeben.

**ACHTUNG**

**Die Stromzufuhr trennen.** Bevor Teile am Gerät ausgetauscht werden, stets die Stromzufuhr zum Gerät trennen, wenn in der Benutzerdokumentation nicht anderweitig angegeben.

**ACHTUNG**

Bei Verwendung von gefährlichen Chemikalien, Verschütten vermeiden und eine Schutzbrille und andere Personenschutzausrüstung tragen. NaOH beispielsweise ist ätzend und daher gesundheitsschädlich.

**ACHTUNG**

Für die Wartung oder Instandsetzung des Systems dürfen nur Ersatz- und Zubehörteile verwendet werden, die von GE zugelassen oder geliefert wurden.

**ACHTUNG**

Beim Austausch eines beschädigten Netzkabels ein Ersatzkabel desselben Typs und derselben Maße verwenden, das alle geltenden örtlichen elektrotechnischen Anforderungen erfüllt und von GE zugelassen wurde.

**ACHTUNG**

Vor einem Austausch der Netzsicherung stets die Netzstromversorgung trennen. Für ununterbrochenen Schutz gegen die Brandgefahr nur gegen eine Sicherung austauschen, deren Typ und Leistung den Angaben auf den Geräteetiketten entspricht.

**VORSICHT**

Bei Verwendung von gefährlichen Chemikalien alle angemessenen Schutzmaßnahmen einhalten, wie beispielsweise das Tragen einer Schutzbrille und Handschuhe, die resistent gegen die verwendeten Substanzen sind. Lokale Vorschriften und Anweisungen für den sicheren Betrieb und die Wartung des Systems befolgen.

## In diesem Kapitel

Dieses Kapitel enthält die folgenden Abschnitte:

| Abschnitt | Siehe Seite |
|---|---|
| 6.1 Wartungsprogramm | 197 |
| 6.2 Anweisungen zur Wartung | 202 |

# 6.1 Wartungsprogramm

## Einführung

Dieser Abschnitt listet die Wartungsarbeiten auf, die von dem Benutzer des Amersham WB analyzer durchgeführt werden müssen. Die Wartung ist unterteilt in:

- Nach jedem Lauf
- Wöchentliche Wartung
- Monatliche Wartung
- Jährliche Wartung
- Wartung nach Bedarf

## Regelmäßiges Wartungsprogramm

Der Bediener des Amersham WB analyzer sollte die folgenden regelmäßigen Wartungsarbeiten durchführen.

| Intervall | Wartungsarbeit | Anweisungen |
|---|---|---|
| Nach jedem Programmlauf in der Elpho & scan Geräteeinheit | | |
| | • Jegliche Flüssigkeit auf der Kartenplatte abwischen<br>• Jegliche Flüssigkeit und jeglichen Schmutz auf dem Schutzglas im Dichtungsdeckel abwischen<br>• Das Glas des Dichtungsdeckels auf Kratzer oder Schrammen überprüfen und sicherstellen, dass das Glas fest am Rahmen fixiert ist<br>• Die Dichtungsdeckelklappe überprüfen, wenn der Rahmen geschlossen ist, und jeglichen Schmutz entfernen | Ein fusselfreies Tuch oder Stück Papier verwenden, das das Schutzglas oder die Kartenplatte nicht zerkratzt.<br>Zum Entfernen von Flecken ein fusselfreies Tuch verwenden, das in 50 % Ethanol angefeuchtet wurde.<br>Den Kundendienst verständigen, wenn ein Teil des Dichtungsdeckels ausgetauscht werden muss. |
| | Reinigen der Pufferstreifenhalter | Die Pufferstreifenhalter unter fließendem Wasser reinigen, um Salze und Puffer zu entfernen.<br>Die Pufferstreifenhalter mit der Oberseite nach unten an der Luft trocknen lassen. |
| | Reinigen der Membranadapter | Die Membranadapter mit einem fusselfreien Tuch reinigen und im Lagerungsbereich des Antikörperfachs platzieren. |

| Intervall | Wartungsarbeit | Anweisungen |
|---|---|---|
| Nach jedem Programmlauf in der Western Geräteeinheit | | |
| | Reinigen des Strömungswegs für Transfer | Wenn der Transferströmungsweg nach einem erfolgten Transfer nicht gereinigt wurde, führen Sie den Reinigungsvorgang durch, indem Sie auf ***Control*:*Clean Transfer flow path*** in der Menüleiste klicken. |
| | Reinigen des Strömungswegs für Sondierung | Wenn der Sondierungsströmungsweg nach einer erfolgten Sondierung nicht gereinigt wurde, führen Sie den Reinigungsvorgang durch, indem Sie auf ***Control*:*Clean Probing flow path*** in der Menüleiste klicken. |
| | Reinigen des Transferhalters | Siehe *Reinigen des Transferhalters, auf Seite 172*. |
| | Reinigen der Trocknungshalter | Reinigen Sie die Trocknungshalter mit einem fusselfreien Tuch und legen Sie sie in das Trocknungsfach. |
| | Entfernen aller Partikel im Transferbehälter | Den Behälter überprüfen und alle Rückstände von Gel oder Papierfasern mit einer Pinzette entfernen.<br>Den Transferbehälterfilter überprüfen und austauschen, falls er verschmutzt ist, siehe *Austauschen des Transferbehälterfilters, auf Seite 215*. |
| | Reinigen des oberen Teils des Transferbehälters | Den oberen Teil des Transferbehälters mit einem feuchten Taschentuch abwischen. |

| Intervall | Wartungsarbeit | Anweisungen |
|---|---|---|
| Wöchentlich (oder wenn das Gerät für einige Tage nicht verwendet wird) | | |
| | Unterhaltsreinigen des Strömungswegs für Transfer | Siehe *Abschnitt 6.2.1 Wöchentliche Reinigung der Strömungswege für Transfer und Sondierung, auf Seite 203*. |
| | Unterhaltsreinigen des Strömungswegs für Sondierung | Siehe *Abschnitt 6.2.1 Wöchentliche Reinigung der Strömungswege für Transfer und Sondierung, auf Seite 203*. |
| | Die folgenden Komponenten überprüfen und gegebenenfalls austauschen:<br>• Pumpen<br>• Schlauch<br>• Luftfiler<br>• Einlassfilter | Informationen zum Austausch von Pumpenköpfen, Luftfilter und Einlassfilter finden Sie unter *Abschnitt 6.2.2 Austauschverfahren, auf Seite 207*.<br>Den Kundendienst verständigen, wenn Schläuche ausgetauscht werden müssen. |
| | Überprüfen und Festziehen der Schlauchanschlüsse | |

| Intervall | Wartungsarbeit | Anweisungen |
|---|---|---|
| Jährlich | | |
| | Ersetzen des Luftfilters im Trocknermodul<br>Der Luftfilter muss u. U. häufiger ausgetauscht werden, wenn die äußere Umgebung in Hinblick auf den Staubgehalt in der Luft unfreundlicher ist als normale Laborumgebungen. | Siehe *Austauschen des Luftfilters, auf Seite 208*. |
| | Austauschen des Transferpumpenkopfes | Siehe *Austauschen des Sondierungs- oder Transferpumpenkopfes, auf Seite 210*. |
| | Austauschen des Sondierungspumpenkopfes | Siehe *Austauschen des Sondierungs- oder Transferpumpenkopfes, auf Seite 210*. |

| Intervall | Wartungsarbeit | Anweisungen |
|---|---|---|
| Nach Bedarf | | |
| | Reinigen des Trocknungsfachs | Das Trocknungsfach mit einem fusselfreien Tuch, das mit Reinstwasser angefeuchtet ist, von jeglichem Staub oder Partikeln befreien. Das Fach vor dem Gebrauch trocknen lassen. |
| | Austauschen der Transferelektroden | Siehe *Austauschen der Transferelektroden, auf Seite 214*. |
| | Austauschen der Pufferstreifenhalter | Bestellinformationen finden Sie im Amersham WB system User Manual. |
| | Austauschen der Netzsicherung | Siehe *Austauschen der Netzsicherung, auf Seite 217*. |
| | Austauschen eines beschädigten Netzkabels | Siehe *Vorsichtsmaßnahmen* am Anfang dieses Kapitels. |
| | Austauschen des Filters im Transferbehälter | Den Filter überprüfen und bei Verschmutzung oder Beschädigung ersetzen.<br>Siehe *Austauschen des Transferbehälterfilters, auf Seite 215*. |
| | Austauschen der Einlassfilter | Siehe *Austauschen der Einlassfilter, auf Seite 216*. |

# 6.2 Anweisungen zur Wartung

## Einführung

Dieser Abschnitt beschreibt die Wartungsarbeiten, die am Amersham WB analyzer durchgeführt werden müssen.

## In diesem Abschnitt

Dieser Abschnitt enthält die folgenden Unterabschnitte:


| Abschnitt | Siehe Seite |
|---|---|
| 6.2.1 Wöchentliche Reinigung der Strömungswege für Transfer und Sondierung | 203 |
| 6.2.2 Austauschverfahren | 207 |
| 6.2.3 Umstellen der Geräteeinheiten | 219 |

# 6.2.1 Wöchentliche Reinigung der Strömungswege für Transfer und Sondierung

## Einführung

Die Unterhaltsreinigung der Strömungswege für Transfer und Sondierung wöchentlich oder in den Situationen durchführen, in denen die Geräteeinheit für einige Tage nicht verwendet wird.

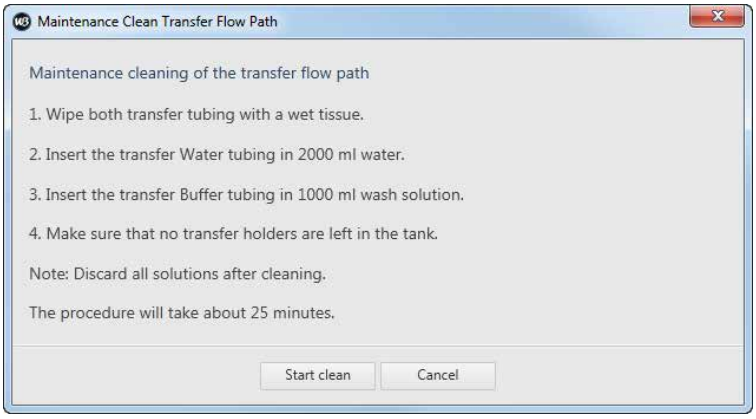
## Unterhaltsreinigung des Strömungswegs für Transfer

Das Verfahren dauert etwa 25 Minuten. Sondierung und Trocknung können parallel ausgeführt werden.

***Anmerkung:*** *Sicherstellen, dass keine Transferhalter im Behälter zurückgeblieben sind.*

**ACHTUNG**

Bei Verwendung von gefährlichen Chemikalien, Verschütten vermeiden und eine Schutzbrille und andere Personenschutzausrüstung tragen. NaOH beispielsweise ist ätzend und daher gesundheitsschädlich.

| Schritt | Maßnahme |
|---|---|
| 1 | In der Software das Menüelement ***Control:Maintenance clean Transfer flow path*** (Steuerung:Strömungsweg für Transfer unterhaltsreinigen) auswählen oder im Startbildschirm der Software auf die Schaltfläche ***Maintenance clean Transfer*** (Unterhaltsreinigen Transfer) klicken.<br>*Ergebnis:* Das Dialogfeld ***Maintenance Clean Transfer Flow Path*** (Unterhaltsreinigen des Strömungswegs für Transfer) wird angezeigt.<br>  |
| 2 | • Den oberen Teil des Transferbehälters und beide Transferschläuche mit einem feuchten Taschentuch abwischen.<br>• Überprüfen, dass der Transferbehälterfilter intakt und sauber ist. Den Filter gegebenenfalls austauschen. |
| 3 | Tauchen Sie den **T Water** Schlauch in eine Flasche mit 2000 ml Reinstwasser. |
| 4 | Den **T Buffer** Schlauch in eine Flasche mit 1000 ml 0,5 M NaOH eintauchen. |
| 5 | Im Dialogfeld auf die Schaltfläche ***Start clean*** (Reinigung starten) klicken. |
| 6 | Nach Beenden der Reinigung die Schläuche in eine leere Flasche umsetzen. |

***Anmerkung:*** *Alle Lösungen nach der Reinigung entsorgen.*

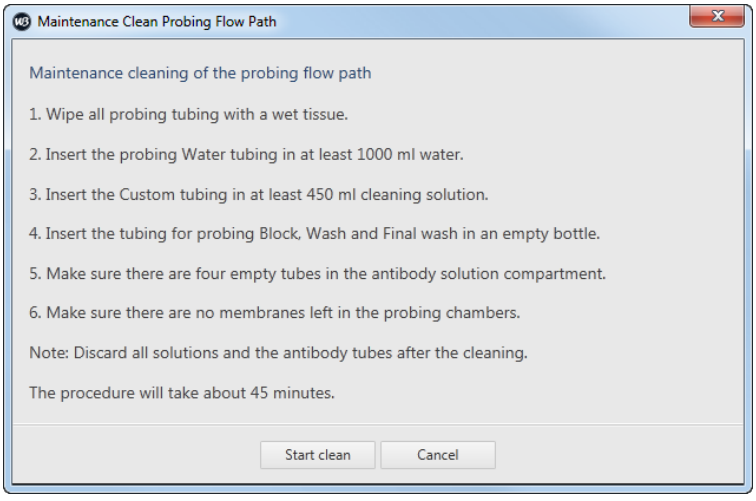
## Unterhaltsreinigung des Strömungswegs für Sondierung

Das Verfahren dauert etwa 45 Minuten. Transfer und Trocknung können parallel ausgeführt werden.

***Anmerkung:*** *Es dürfen keine PVDF Karten in den Sondierungskammern zurückgelassen werden.*

**ACHTUNG**

Bei Verwendung von gefährlichen Chemikalien, Verschütten vermeiden und eine Schutzbrille und andere Personenschutzausrüstung tragen. NaOH beispielsweise ist ätzend und daher gesundheitsschädlich.

| Schritt | Maßnahme |
|---|---|
| 1 | In der Software das Menüelement ***Control:Maintenance clean Probing flow path*** (Steuerung:Strömungsweg für Sondierung unterhaltsreinigen) auswählen oder im Startbildschirm der Software auf die Schaltfläche ***Maintenance clean Probing*** (Unterhaltsreinigen Sondierung) klicken.<br>*Ergebnis:* Das Dialogfeld ***Maintenance Clean Probing Flow Path*** (Unterhaltsreinigen des Strömungswegs für Sondierung) wird angezeigt.<br>  |
| 2 | Die Sondierungsschläuche und den Deckel und die Seiten der Sondierungskammer mit einem feuchten Taschentuch abwischen. |
| 3 | Tauchen Sie den **P Water** Schlauch in eine Flasche mit mindestens 1000 ml Reinstwasser. |
| 4 | Den **P Custom** Schlauch in eine Flasche mit mindestens 450 ml 0,5 M NaOH eintauchen. |
| 5 | Die **P Block**, **P Wash** und **P Final Wash** Schläuche in einem leeren Ablaufbehälter platzieren. |
| 6 | **Vier** saubere leere 15-ml-Röhrchen in das Antikörperfach einsetzen und anschließen. |

| Schritt | Maßnahme |
|---|---|
| 7 | Im Dialogfeld auf ***Start clean*** (Reinigung starten) klicken. |
| 8 | Nach Beenden der Reinigung die Schläuche in eine leere Flasche umsetzen. |

***Anmerkung:*** *Alle Lösungen und Antikörperröhrchen nach der Reinigung entsorgen.*

# 6.2.2 Austauschverfahren

## Einführung

In diesem Abschnitt wird der Austausch der folgenden Komponenten beschrieben:

- Luftfiler
- Transfer- und Sondierungspumpenköpfe
- Transferelektroden
- Transferbehälterfilter
- Einlassfilter
- Netzsicherung

## Wartungszubehör

Die folgenden Zubehörteile werden für die Wartung des Amersham WB analyzer benötigt.

- Pumpenkopf (für Transferpumpe oder Sondierungspumpe)
- Luftfiler
- Transferbehälterfilter
- Transferelektroden
- Einlassfiltersatz
- Sicherung (die richtige Sicherung finden Sie unter *Abschnitt 7.1 Systemspezifikationen, auf Seite 221* )

## Vorsichtsmaßnahmen

**ACHTUNG**

**Die Stromzufuhr trennen.** Bevor Teile am Gerät ausgetauscht werden, stets die Stromzufuhr zum Gerät trennen, wenn in der Benutzerdokumentation nicht anderweitig angegeben.

**ACHTUNG**

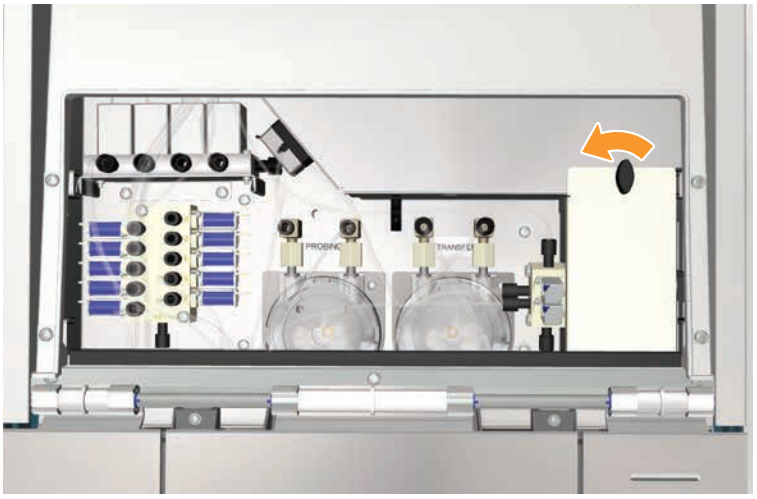
Vor dem Öffnen des Wartungskammerdeckels alle Flaschen aus dem Flaschengestell entfernen.

## Austauschen des Luftfilters

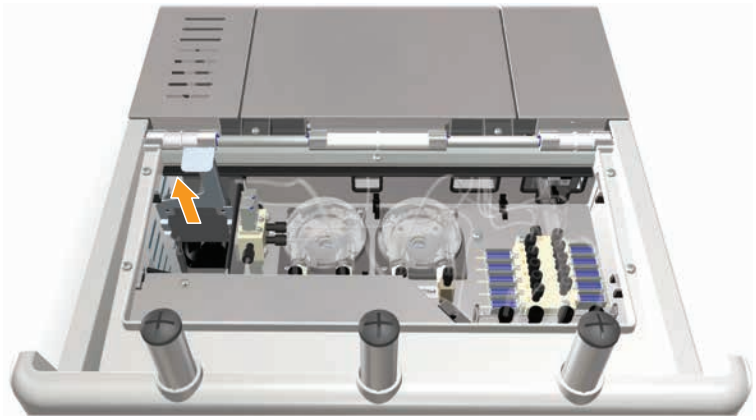
Die nachstehende Anweisung beschreibt, wie der Luftfilter ausgetauscht wird.

| Schritt | Maßnahme |
|---|---|
| 1 | Den Deckel des Wartungsfachs öffnen. |

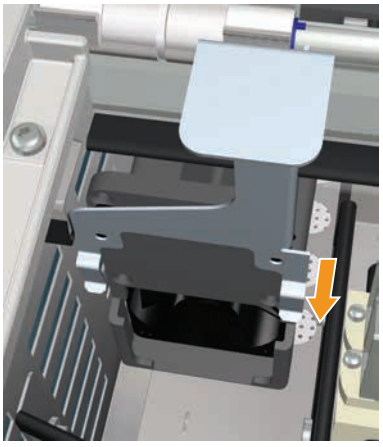
| | |
|---|---|
| 2 | Den Deckel über dem Fach öffnen, in dem sich der Filter befindet. Hierzu die Mutter gegen den Uhrzeigersinn drehen und entfernen. |



| Schritt | Maßnahme |
|---|---|
| 3 | Den Filter aus dem Rahmen entfernen. Hierzu den Filter mit der angebrachten Halterung hochziehen. |



| | |
|---|---|
| 4 | Den oberen Teil des Kunststoffgitters an der Halterung entfernen, an der sich der Filter befindet. |
| 5 | Den Filter gegen einen neuen Filter austauschen und den oberen Teil des Kunststoffgitters fixieren. |
| 6 | Die Halterung mit einem neuen Filter in die Führungen im Rahmen einsetzen. |



| | |
|---|---|
| 7 | Den Deckel des Filterfachs wieder in Position bringen und die Mutter durch Drehen im Uhrzeigersinn festziehen. |

| Schritt | Maßnahme |
|---|---|
| 8 | Den Deckel des Wartungsfachs schließen. |

## Austauschen des Sondierungs- oder Transferpumpenkopfes

Die nachstehende Anweisung beschreibt den Austausch eines Pumpenkopfes am Beispiel der Sondierungspumpe. Der Austausch des Transferkopfes verläuft vergleichbar.

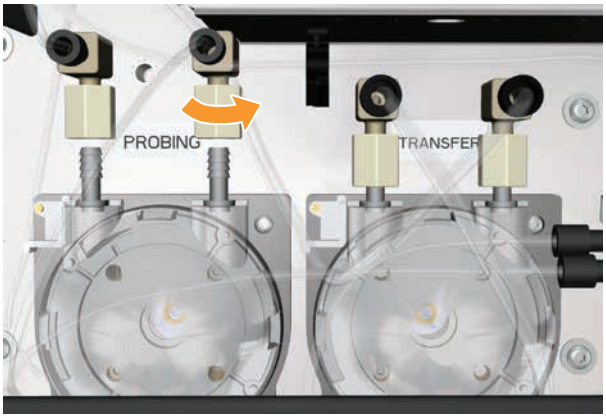
| Schritt | Maßnahme |
|---|---|
| 1 | Den Deckel des Wartungsfachs öffnen, um an die Sondierungs- und Transferpumpen zu gelangen. |

***Anmerkung:***

*Die Sondierungspumpe befindet sich links und die Transferpumpe rechts.*

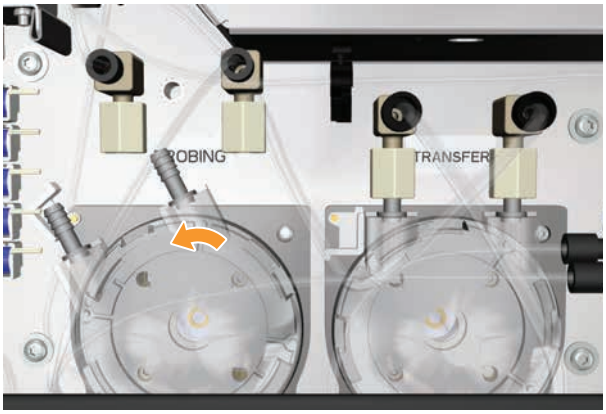
| Schritt | Maßnahme |
|---|---|
| 2 | Die Pumpenschläuche links abziehen. |

| | |
|---|---|
| 3 | Die Pumpenschläuche rechts abziehen. |

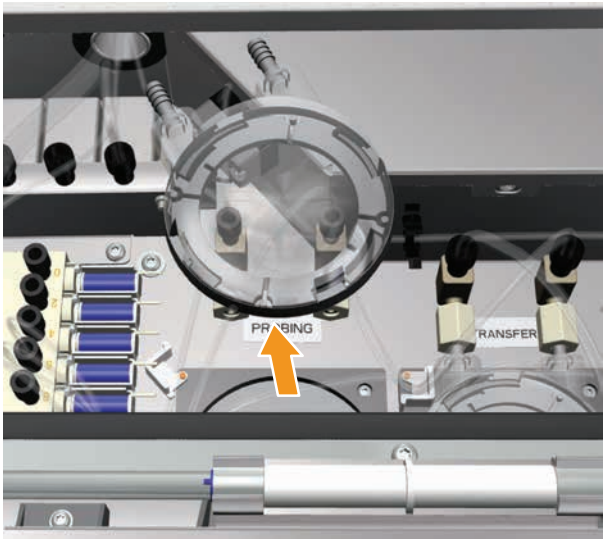


| Schritt | Maßnahme |
|---|---|
| 4 | Die Arretierung entriegeln, die den Pumpenkopf in Position hält. |

| | |
|---|---|
| 5 | Den Pumpenkopf gegen den Uhrzeigersinn drehen. |



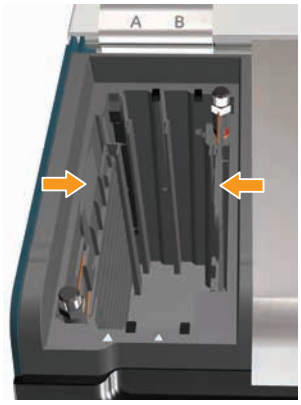
| Schritt | Maßnahme |
|---|---|
| 6 | Den Pumpenkopf aus dem Wartungsfach herausheben.<br><br>***Anmerkung:***<br>*Beim Entfernen des Kopfes darauf achten, dass keine Schläuche in der Western Geräteeinheit beschädigt oder verbogen werden. Wenn ein Schlauch beschädigt oder verbogen ist, muss er gegen einen neuen Schlauch ausgetauscht werden. Kundendienst verständigen und Hilfe anfordern.* |
| 7 | Einen neuen Pumpenkopf auspacken. |
| 8 | Den neuen Pumpenkopf in die richtige Position bringen und im Uhrzeigersinn drehen.<br><br>***Anmerkung:***<br>*Sicherstellen, dass sich das dazugehörige Rad des Pumpenkopfes in der richtigen Position für die Antriebswelle des Pumpenmotors befindet.* |
| 9 | Die Arretierung verriegeln, um den Pumpenkopf in der richtigen Position zu halten. |
| 10 | Den Pumpenschlauch rechts mit dem rechten Anschluss des Pumpenkopfes verbinden. |
| 11 | Den Pumpenschlauch links mit dem linken Anschluss des Pumpenkopfes verbinden. |
| 12 | Den Deckel des Wartungsfachs schließen. |



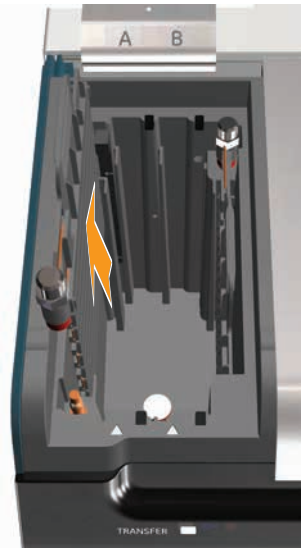
## Austauschen der Transferelektroden

Wenn das Transferverfahren fehlschlägt, könnten defekte Transferelektroden die Ursache sein. Es empfiehlt sich, beide Elektroden auszutauschen. Die nachstehende Anweisung beschreibt, wie die Transferelektroden ausgetauscht werden.

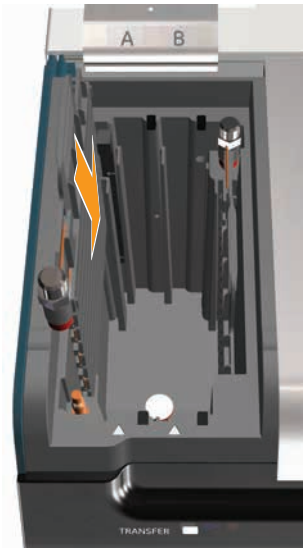
| Schritt | Maßnahme |
|---|---|
| 1 | Den Transferbehälterdeckel öffnen. Auf jeder Seite befindet sich jeweils eine Elektrode. |




| | |
|---|---|
| 2 | Die Elektrode hochziehen. |



| Schritt | Maßnahme |
|---|---|
| 3 | Die neue Elektrode einsetzen und herunterdrücken. |



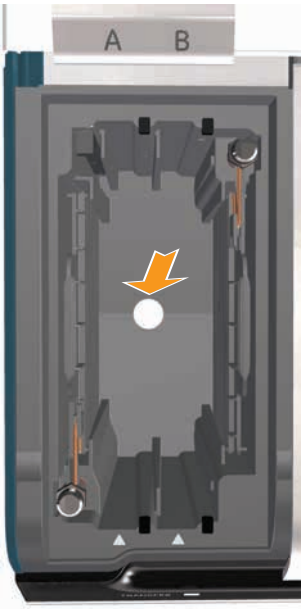

| | |
|---|---|
| 4 | Das Verfahren in gleicher Weise mit der Elektrode auf der anderen Seite wiederholen. |
| 5 | Den Transferbehälterdeckel schließen. |

## Austauschen des Transferbehälterfilters

***Anmerkung:*** *Wenn der Transferfilter verschmutzt ist, kann er nicht entfernt, gereinigt und wieder eingesetzt werden. Der Filter muss ausgetauscht werden.*

Die nachstehende Anweisung beschreibt, wie der Transferbehälterfilter ausgetauscht wird.

| Schritt | Maßnahme |
|---|---|
| 1 | Den Deckel des Transferbehälters öffnen. Der Filter befindet sich im Boden des Transferbehälters. |




| | |
|---|---|
| 2 | Die Mitte des Filters mit einer Pinzette durchstechen.<br><br>***Anmerkung:***<br>*Den Filter nicht durch Griff an den Seiten entfernen, da dies die Filterdichtung beschädigen könnte.* |
| 3 | Die Öffnung zum Zugreifen nutzen und den Filter entfernen. |
| 4 | Den neuen Filter auf die Filterdichtung setzen und leicht auf den Filter drücken. |

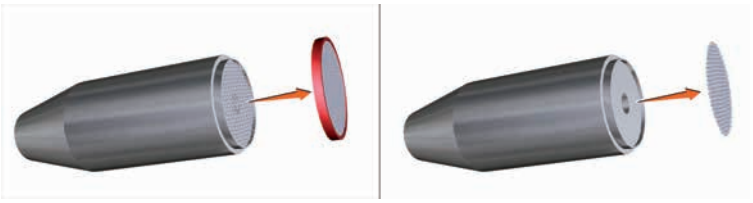
## Austauschen der Einlassfilter

Den Einlassfilter gegebenenfalls austauschen, z. B. wenn die Filter verstopfen.

Erforderliche Materialien: Einlassfiltersatz.

Zum Austausch eines Einlassfilters und eines Stützetzes die nachstehenden Anweisungen befolgen.

| Schritt | Maßnahme |
|---|---|
| 1 | Das Stütznetz abziehen und den Einlassfilter aus der Einlassfilterhalterung ziehen. |



| | |
|---|---|
| 2 | Das neue Stütznetz und den Einlassfilter auf der Einlassfilterhalterung einpassen und den Filter in Position drücken. |

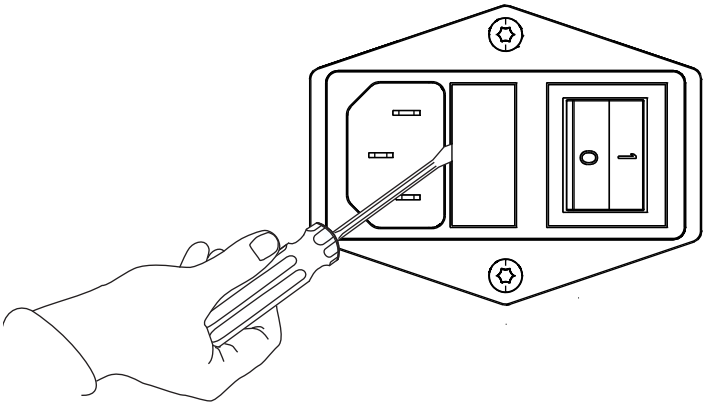
## Austauschen der Netzsicherung

**ACHTUNG**

Vor einem Austausch der Netzsicherung stets die Netzstromversorgung trennen. Für ununterbrochenen Schutz gegen die Brandgefahr nur gegen eine Sicherung austauschen, deren Typ und Leistung den Angaben auf den Geräteetiketten entspricht.

| Schritt | Maßnahme |
|---|---|
| 1 | Die Stromzufuhr zum Amersham WB analyzer ausschalten. Hierzu die Netzschalter auf den Rückseite der Elpho & scan und der Western Geräteeinheit in die Aus-Stellung (**0**) bringen. |
| 2 | Die Netzkabel von den Netzstromeingängen an der Elpho & scan und der Western Geräteeinheit abziehen. |
| 3 | Das Sicherungsfach im Anschlussfeld der entsprechenden Geräteeinheit lokalisieren. |

| Schritt | Maßnahme |
|---|---|
| 4 | Einen kleinen Schraubendreher in die Kerbe neben dem Sicherungsfach stecken. |



| | |
|---|---|
| 5 | Das Sicherungsfach mit dem Schraubendreher öffnen. |
| 6 | Die Sicherungen austauschen.<br>Daten zu den Sicherungen befinden sich auf den Schildern auf der Rückseite der Geräteeinheiten. |
| 7 | Die Sicherungslade in die Öffnung am Anschlussfeld stecken. |

# 6.2.3 Umstellen der Geräteeinheiten

## Vorsichtsmaßnahmen

**VORSICHT**

**Persönliche Schutzausrüstung (PSA).** Wenn das System verpackt, ausgepackt, transportiert bzw. umgestellt werden soll, muss die folgende Schutzausrüstung getragen werden:

- Sicherheitsschuhwerk, vorzugsweise mit Stahlauskleidung
- Arbeitshandschuhe, die Schutz gegen scharfe Kanten bieten
- Schutzbrille

**VORSICHT**

**Schweres Objekt.** Zum sicheren Anheben der Geräteeinheiten sind zwei Personen erforderlich.

**VORSICHT**

Die Western Geräteeinheit niemals bewegen, wenn Flaschen auf dem Gerät stehen.

**HINWEIS**

**Kabel ziehen.** Vor dem Bewegen einer Geräteeinheit stets Kabel ziehen, um eine Beschädigung des Geräts zu vermeiden.

## Anweisung zum Anheben

| Schritt | Maßnahme |
|---|---|
| 1 | Alle Kabel von den Geräteeinheiten abziehen und alle Flaschen auf den Geräteeinheiten entfernen. |
| 2 | Hierzu sind zwei Personen erforderlich. Eine Geräteeinheit zum Anheben mit jeweils einer Hand auf einer Seite aufnehmen und anheben. |

# 7 Informationen zu Verweisen

## Zu diesem Kapitel

In diesem Kapitel sind die technischen Daten des Amersham WB analyzer aufgeführt. Das Kapitel enthält auch einen Leitfaden zur Chemikalienbeständigkeit und einen Dekontaminationsbericht, in dem die Details der Dekontamination vor einer Instandsetzung aufgezeichnet werden müssen.

## In diesem Kapitel

Dieses Kapitel enthält die folgenden Abschnitte:


| Abschnitt | Siehe Seite |
|---|---|
| 7.1 Systemspezifikationen | 221 |
| 7.2 Leitfaden zur Chemikalienbeständigkeit | 226 |
| 7.3 Gesundheits- und Sicherheitserklärungsformular | 228 |
| 7.4 Übersetzungen von Zubehörteilen und Verbrauchsmaterialien | 230 |

# 7.1 Systemspezifikationen

## Einführung

In diesem Abschnitt werden die Systemspezifikationen des Amersham WB analyzer aufgelistet.

## Betriebsbereiche

| Parameter | Daten |
|---|---|
| Temperaturbereich für Lagerung und Transport | -25° C bis +60° C |
| Chemische Umgebung | Siehe *Abschnitt 7.2 Leitfaden zur Chemikalienbeständigkeit, auf Seite 226*. |

## Betriebsbereich

| Parameter | Grenzen |
|---|---|
| Betriebstemperaturbereich | 15 °C bis 32 °C<br>Für volle Leistung: 16 °C bis 28 °C |
| Relative Luftfeuchtigkeit | 20 % bis 80%, nicht kondensierend<br>Für volle Leistung: 20 % bis 70%, nicht kondensierend |
| Höhe über dem Meeresspiegel | Maximal 2.000 m |
| Emissionsgrad | 2 |
| Transienten | Überspannungskategorie II |
| Umgebung | Nur in Gebäuden |

## Systemspezifikationen Amersham WB analyzer

| Parameter | Daten |
|---|---|
| Systemkonfiguration | Tischsystem aus externem Computer und zwei Geräteeinheiten: der Elpho & scan Geräteeinheit und der Western Geräteeinheit<br>Der Computer ist nicht im Lieferumfang enthalten. |
| Steuerung des Computerbetriebssystems | PC mit Windows 7 |
| Steuersoftware | Amersham WB software |
| Verbindung zwischen der Elpho & scan Geräteeinheit und der Western Geräteeinheit | Ethernet-Kabel |
| Verbindung zwischen PC und der Elpho & scan Geräteeinheit | USB-Kabel (Typ A nach Typ B) |
| Emissionsgrad | 2 |
| Geräuschpegel | Unter 80 dB(A) |

## Systemspezifikationen Elpho & scan Geräteeinheit

| Parameter | Daten |
|---|---|
| Abmessungen (B x T x H) | 47 x 51 x 27 cm |
| Gewicht (exkl. Computer) | 25 kg |
| Stromversorgung | Spannung: 100-240 V~ ±10 %<br>Frequenz: 50-60 Hz |
| Stromverbrauch | Max. Leistung: 300 VA |
| Fuse | 2x T4AH 250 V |

## Scannerspezifikationen

| Parameter | Daten |
|---|---|
| Bildsensor | Silizium-Fotodiode |
| Anlaufzeit | Mindestens 1 Minute<br>***Anmerkung:***<br>*Das Anlaufen ist im automatischen Empfindlichkeitsmodus enthalten.* |
| Linse | F1,0/13 mm |
| Lichtquelle | Cy5:<br>Laserdiodenmodul, 635 nm, 10 mW |
| | Cy3:<br>Laserdiodenmodul, 532 nm, 10 mW. |
| Betrieb | Vollautomatisch (automatische Belichtung, weder Fokussierung noch andere Einstellungen oder Kalibrierungen erforderlich) |
| Maximale Probengröße | 2 Proben von etwa 80 x 65 $mm^2$ |
| Grauskala | 65 536 Stufen (16 Bit) |
| Dynamikbereich | 4,6 Größenordnungen |
| Bildausgabe | 16-Bit-Grauskala (tif) |

## Trennungsspezifikationen

| Parameter | Beschreibung |
|---|---|
| Voltage | 250-600 V [1] |
| Strom | 20-50 mA[1] |

1 Die maximale Leistung beträgt 20 W/Gelkarte. Die Maximalwerte der Parameter können nicht gleichzeitig erreicht werden.

## Systemspezifikationen Western Geräteeinheit

| Parameter | Daten |
|---|---|
| Abmessungen (B x T x H) | 43 x 53 x 39 cm |
| Gewicht | 20 kg |
| Stromversorgung | Spannung: 100-240 V Wechselstrom<br>Frequenz: 50-60 Hz |
| Stromverbrauch | Max. Leistung: 400 VA |
| Fuse | 2x T4AH 250 V |
| Transferschläuche und Schlauchverbinder | Schlauchmaterial: FEP, ID 1/8"<br>Ferrule blau<br>Schlauchverbinder: Mutter 5/16"-24UNF 2-A |
| Sondierungsschläuche und Schlauchverbinder | Schlauchmaterial: FEP, ID 0,063"<br>Ferrule gelb<br>Schlauchverbinder: Mutter 1/4"-28UNF 2-B |

## Transferspezifikationen

| Parameter | Beschreibung |
|---|---|
| Voltage | 10-100 V [1] |

1 Die Maximalleistung beträgt 40 W, die Maximalstromstärke beträgt 400 mA.

## Sondierungsspezifikationen

| Parameter | Beschreibung |
|---|---|
| Volumina, Antikörpersondierung | 5-12 ml |

## Trocknungsspezifikationen

| Parameter | Beschreibung |
|---|---|
| Temperatur | Maximal 45 °C |
| Trocknungsdauer | 10 Minuten |

# 7.2 Leitfaden zur Chemikalienbeständigkeit

## Einführung

Dieser Abschnitt beschreibt die Chemikalienbeständigkeit des Amersham WB analyzer gegenüber den am häufigsten verwendeten Chemikalien bei der Elektrophorese und dem Western Blotting.

## Annahmen

Die Auslegungen basieren auf den folgenden Voraussetzungen:

- Die synergistischen Auswirkungen der chemischen Gemische wurden nicht berücksichtigt.
- Raumtemperatur und begrenzter Überdruck wird vorausgesetzt.

***Anmerkung:*** *Chemische Einflüsse hängen von Zeitdauer und Druck ab. Wenn nicht anders angegeben belaufen sich alle Konzentrationen auf 100 %.*

## Liste der Chemikalien

Eine Liste der Chemikalien, die in den Gelkarten und Pufferstreifen verwendet werden, finden Sie im Sicherheitsdatenblatt (SDB).

| Verwendung | Chemische | Konzentration | CAS-Nr. und EC-Nr. |
|---|---|---|---|
| Allgemeines | Wässrige Puffer mit pH-Wert 4-10 (z. B. Tris, Glycin, Phosphat) | 0-0,2 M | N/Z |
| Transfer | Ethanol | 40% | 64-17-5/200-578-6 |
| | Methanol | 40% | 67-56-1/200-659-6 |
| Transfer und Sondierung | Natriumchlorid | 0,2 M | 7647-14-5/231-598-3 |
| | Kaliumchlorid | 50 mM | 7447-40-7/231-211-8 |
| | Tween | 1% | 9005-64-5/500-018-3 |
| Reinigung von Strömungswegen | Natriumhydroxid | 0,5 M | 1310-73-2/215-185-5 |
| | Natriumhypochlorit | 5% | 7681-52-9/231-668-3 |
| Reinigung der Kartenplatte | Ethanol | 50% | 64-17-5/200-578-6 |

| Verwendung | Chemische | Konzentration | CAS-Nr. und EC-Nr. |
|---|---|---|---|
| Reingung von Oberflächen | Ethanol | 96% | 64-17-5/200-578-6 |
| | Milde Reinigungsmittel | N/Z | N/Z |

# 7.3 Gesundheits- und Sicherheitserklärungsformular

## Wartung vor Ort

Zur Aufzeichnung von Details zur Dekontamination vor einem Vor-Ort-Service muss ein Bericht zum On Site Service Health & Safety Declaration Form, wie etwa im folgenden Beispiel, verwendet werden.

### On Site Service Health & Safety Declaration Form

| Service Ticket #: | |
|---|---|

To make the mutual protection and safety of GE service personnel and our customers, all equipment and work areas must be clean and free of any hazardous contaminants before a Service Engineer starts a repair. To avoid delays in the servicing of your equipment, please complete this checklist and present it to the Service Engineer upon arrival. Equipment and/or work areas not sufficiently cleaned, accessible and safe for an engineer may lead to delays in servicing the equipment and could be subject to additional charges.

| Yes | No | Please review the actions below and answer "Yes" or "No". Provide explanation for any "No" answers in box below. |
|---|---|---|
| | | **Instrument has been cleaned of hazardous substances.** Please rinse tubing or piping, wipe down scanner surfaces, or otherwise ensure removal of any dangerous residue. Ensure the area around the instrument is clean. If radioactivity has been used, please perform a wipe test or other suitable survey. |
| | | Adequate space and clearance is provided to allow safe access for instrument service, repair or installation. In some cases this may require customer to move equipment from normal operating location prior to GE arrival. |
| | | **Consumables, such as columns or gels, have been removed or isolated from the instrument and from any area that may impede access to the instrument.** |
| | | **All buffer / waste vessels are labeled. Excess containers have been removed from the area to provide access.** |
| **Provide explanation for any "No" answers here:** | | |

| Equipment type / Product No: | | Serial No: | |
|---|---|---|---|

I hereby confirm that the equipment specified above has been cleaned to remove any hazardous substances and that the area has been made safe and accessible.

| Name: | | Company or institution: | |
|---|---|---|---|
| Position or job title: | | Date (YYYY/MM/DD): | |
| Signed: | | | |

GE and GE monogram are trademarks of General Electric Company.
GE Healthcare Bio-Sciences Corp, 800 Centennial Avenue, P.O. Box 1327, Piscataway, NJ 08855-1327
© 2010-14 General Electric Company—All rights reserved. First published April 2010.

DOC1149542/28-9800-26 AC 05/2014

## Rückgabe oder Wartung von Produkten

Zur Aufzeichnung von Details zur Dekontamination vor einer Produktrückgabe oder -instandsetzung muss ein Bericht zum Health & Safety Declaration Form for Product Return or Servicing, wie etwa im folgenden Beispiel, verwendet werden.

### Health & Safety Declaration Form for Product Return or Servicing

| | | | |
|---|---|---|---|
| **Return authorization number:** | | *and/or* **Service Ticket/Request:** | |

To make sure the mutual protection and safety of GE personnel, our customers, transportation personnel and our environment, all equipment must be clean and free of any hazardous contaminants before shipping to GE. To avoid delays in the processing of your equipment, please complete this checklist and include it with your return.

1. Please note that items will NOT be accepted for servicing or return without this form
2. Equipment which is not sufficiently cleaned prior to return to GE may lead to delays in servicing the equipment and could be subject to additional charges
3. Visible contamination will be assumed hazardous and additional cleaning and decontamination charges will be applied

| Yes | No | Please specify if the equipment has been in contact with any of the following: | |
|---|---|---|---|
| | | Radioactivity (please specify) | |
| | | Infectious or hazardous biological substances (please specify) | |
| | | Other Hazardous Chemicals (please specify) | |

**Equipment must be decontaminated prior to service / return. Please provide a telephone number where GE can contact you for additional information concerning the system / equipment.**

| | | |
|---|---|---|
| **Telephone No:** | | |
| **Liquid and/or gas in equipment is:** | ☐ | **Water** |
| | ☐ | **Ethanol** |
| | ☐ | **None, empty** |
| | ☐ | **Argon, Helium, Nitrogen** |
| | ☐ | **Liquid Nitrogen** |
| | **Other, please specify** | |

| | | | |
|---|---|---|---|
| **Equipment type / Product No:** | | **Serial No:** | |

**I hereby confirm that the equipment specified above has been cleaned to remove any hazardous substances and that the area has been made safe and accessible.**

| | | | |
|---|---|---|---|
| **Name:** | | **Company or institution:** | |
| **Position or job title:** | | **Date (YYYY/MM/DD)** | |
| **Signed:** | | | |

**To receive a return authorization number or service number, please call local technical support or customer service.**

GE and GE monogram are trademarks of General Electric Company.
GE Healthcare Bio-Sciences Corp, 800 Centennial Avenue, P.O. Box 1327, Piscataway, NJ 08855-1327, US
© 2010-14 General Electric Company—All rights reserved. First published April 2010.

DOC1149544/28-9800-27 AC 05/2014

# 7.4 Übersetzungen von Zubehörteilen und Verbrauchsmaterialien

| Produktname auf Englisch | Übersetzung |
|---|---|
| Amersham WB labeling buffer | Markierungspuffer |
| Amersham WB loading buffer | Ladepuffer |
| Amersham WB molecular weight markers | Molekulargewichtsmarker |
| Amersham WB gel card 14, 8-18% | Gelkarte |
| Amersham WB gel card 14, 13.5% | Gelkarte |
| Amersham WB buffer strip | Pufferstreifen |
| Amersham WB PVDF card | PVDF-Karte |
| Amersham WB transfer paper | Transferpapier |
| Amersham WB goat anti-rabbit Cy3/Cy5 | Ziege Anti-Kaninchen Cy3/Cy5 |
| Amersham WB goat anti-mouse Cy3/Cy5 | Ziege Anti-Maus Cy3/Cy5 |
| Amersham WB paper comb | Papierkamm |
| Amersham WB buffer strip holder | Pufferstreifenhalter |
| Amersham WB transfer holder | Transferhalter |
| Amersham WB sponge | Schwamm |
| Amersham WB membrane adapter | Membranadapter |
| Amersham WB drying holder | Trocknungshalter |

# Index


## A

Anmerkungen und Tipps, 9
Antikörper (sekundär)
  Beschreibung, 83
  Konjugierte CyDyes, 83
  Lagerung von lyophilisierten Antikörpern, 64
  Lagerung von rekonstituierten Antikörpern, 64
Antikörperfach
  Anschließen der Antikörperlösungen, 176
  Beschreibung, 53
Anzeigen der Ergebnisse, 192

## B

Behördliche Vorschriften, 10
  Einhaltung gesetzlicher Vorschriften angeschlossener Geräte, 13
  Internationale Normen, 11
  Laserbestimmungen und -standards, 12
  Umweltkonformität, 12
Bestellinformationen
  Bestellen von Verbrauchsmaterialien, 62

## C

CE
  Konformität, 10
CE-Kennzeichnung, 11
Computeranforderungen, 96
CyDye
  Anregungswellenlänge, 83
  Emissionswellenlänge, 83

## D

Dekontamination, 35
Dokumentation
  Benutzerdokumentation, 14
  Datendateien und Anwendungshinweise, 16
  Methodenhandbuch, 15

## E

Einbau
  Einbauen der Membrantrocknerführungen, 108
  Einbauen der Transferelektroden, 100
  Einbauen des Matrixmarkierungslesers, 110
  Montieren der Schlauchschäfte, 104
Einhaltung von FCC-Bestimmungen, 12
Einlassfilter
  Anbringen der Einlassfilter an den Schläuchen, 106
  Austauschen des Einlassfilters, 216
  Einlassfilterhalterung, 87
Einlassfilterhalterung
  Beschreibung, 87
Elektrophorese
  Entfernen der Gelkarte, 146
  Laden der Proben, 141
  Platzieren der Pufferstreifenhalter in derElpho & scan Geräteeinheit, 136
  Platzieren von Pufferstreifen in Pufferstreifenhaltern, 135
  Starten und Überwachen, 143
  Verfahren nach, 146
  Vorbereiten, 135
Elektrophorese-Experiment
  Beschreibung, 118
  Überblick, 119
Elektrophorese- und Scan-Geräteeinheit
  Starten, 122
Elpho & scan Geräteeinheit, 40
  Öffnen, 136
  Reinigen, 147
  Schließen, 141
Elpho & scan Lader, 42
Entfernen der Probenbettabdeckung, 140

Entsorgung, allgemeine Anweisungen, 35
Entsorgung elektrischer Komponenten, 35
Experiment
  Eingeben von Antikörperinformationen, 127
  Eingeben von Probeninformationen, 126
  Elektrophorese-Experimente, 118
  Erstellen, 125
  Western-Experimente, 118

## F

Formular mit Erklärung zum Arbeits- und Gesundheitsschutz, 228–229

## G

Gelkarte
  Auflösung der Proteintrennung, 71
  Auswählen des Typs, 125
  Entfernen der Schutzfilme vor der Elektrophorese, 138
  Lösen des Gelrahmens aus dem Gelträger, 160
  Platzieren auf der Kartenplatte, 139
  Typen, 71
  Überblick über die Zerlegung, 159
  Zusammensetzung, 71
Gerät
  Anschließen am Computer, 103
  Anschließen der Geräteeinheiten, 103
  Anschließen der Netzkabel, 104
  Elpho & scan Geräteeinheit, 40
  Elpho & scan Lader, 42
  Überprüfen der Geräteverbindung, 115
  Western Geräteeinheit, 45

## H

Herstellerinformationen, 10

## I

Indikatoren, 39
Installation
  Computeranforderungen, 96
  Platzbedarf, 95
  Raumanforderungen, 94
  Softwareinstallation, 111
Internationale Normen, 11

## L

Laden der Proben, 141
Lösungen
  Anschließen der Antikörperlösungen, 176
  Anschließen der Sondierungslösungen, 175
  Anschließen der Transferlösungen, 150
  Antikörper, 174
  Blockierung, 174
  Sondierung, 174
  Transfer, 149
Luftfilter
  Austauschen des Luftfilters, 208

## M

Matrixmarkierungsleser
  Beschreibung, 87
  Einbauen des Matrixmarkierungslesers, 110
Membranadapter
  Beschreibung, 86
  Platzieren auf der Kartenplatte, 190
  Reinigen, 193, 198
Membrantrocknerführungen
  Einbauen der Membrantrocknerführungen, 108
Molekulargewichtsmarker
  Abbildung, 69
  Proteine, 69

## N

Netzsicherung
  Austauschen der Netzsicherung, 217

## P

Papierkamm
Beschreibung, 76
Verfahren, 145
Platzbedarf, 95
Prelabelin
Erforderliche Lösungen und Materialien, 129
Prelabeling, 128
Vorbereitungen, 130
Western Prelabeling-Protokoll, 131
Puffer
Lysepuffer, 129
Pufferstreifen
Beschreibung, 74
Platzieren im Pufferstreifenhalter, 135
Pufferstreifenhalter
Beschreibung, 74
Platzieren in der Elpho & scan Geräteeinheit, 136
Reinigen, 147, 198
Puffer und Lösungen
Abschließender Waschpuffer, Sondierung, 174
Antikörperlösung, Sondierung, 174
Blockierungslösung, 174
Reinstwasser, Reinigung, 149, 174
Transferpuffer, 149
Waschpuffer, Sondierung, 174
Pumpenkopf
Austauschen des Sondierungs- oder Transferpumpenkopfes, 210
PVDF card-Karte
Vorbereiten, 154
PVDF Karte
Beschreibung, 80
Bewegen Sie sie zum Trocknungsfach, 183
PVDF-Karte
Platzieren in der Elpho & scan Geräteeinheit, 189
Platzieren in der Sondierungskammer, 181
Starten und Überwachen des Scans, 191

## R

Raumanforderungen, 94
Recycling gefährlicher Substanzen, 35
Reinigen
Elpho & scan Geräteeinheit, 147
Membranadapter, 193, 198
Pufferstreifenhalter, 147, 198
Strömungsweg für Sondierung, 185, 199
Strömungsweg für Transfer, 171, 199
Transferbehälter, 199
Transferhalter, 172
Trocknungsfach, 201
Trocknungshalter, 193, 199
Rezepturen
Antikörperlösungen, 174
Sondierungslösungen, 174
Transferlösungen, 149

## S

Scannen
Prozeduren nach, 193
PVDF-Karte, 189
Vorbereitungen vor, 189
Schlauchhalter
Anbringen, 106
Beschreibung, 88
Schlauchschäfte
Montieren, 104
Schwamm
Beschreibung, 82
Legen in den Transferhalter, 158
Sicherheit
Hinweise, 9
Sicherheitsschalter, 37
Sicherheitsvorkehrungen
Einführung, 18
Software
Installation, 111
Starten, 124
Überblick, 89
Sondierung

Anschließen der Antikörperlösungen, 176
Anschließen der Sondierungslösungen, 175
Austauschen des Sondierungspumpenkopfes, 210
Flüssigkeitsweg, 58
Grundprinzip des Sondierungsvorgangs, 59
Reinigen des Strömungswegs, 185
Reinigen des Strömungswegs für Sondierung, 199
Starten und Überwachen, 182
Vorfüllen der Sondierungskammer, 179
Wartung frei von Strömungsweg, 204
Zubereiten von Sondierungs- und Antikörperlösungen, 174
Sondierungsfach
Beschreibung, 51

## T

Transfer
Anschließen der Lösungen, 150
Austauschen der Transferelektroden, 214
Austauschen des Transferbehälterfilters, 215
Austauschen des Transferpumpenkopfes, 210
Flüssigkeitsweg, 56
Grundprinzip des Transfervorgangs, 57
Reinigen des Strömungswegs für Transfer, 199
Starten und Überwachen, 168
Wartung frei von Strömungsweg, 203
Zubereiten und Anschließen der Lösungen, 149
Transferbehälter
Beschreibung, 50
Laden des Transfer-Sandwiches, 167
Reinigen, 199
Transferbehälterfilter
Austauschen des Transferbehälterfilters, 215
Transferelektroden
Austauschen der Transferelektroden, 214
Einbauen, 100
Transferhalter
Beschreibung, 78
Entfernen nach einem Programmlauf, 170
Reinigen, 172
Transferpapier
Beschreibung, 81
Transfer-Sandwich
Laden in den Transferbehälter, 167
Materialien, 151
Übersicht über das Zusammensetzen, 152
Vorbereiten, 151
Transportschutz
Entfernen, 100
Trocknung
Start und Überwachung, 187
Trocknungsfach
Beschreibung, 52
Reinigen, 201
Trocknungshalter, 85
Reinigen, 193, 199
Typografische Konventionen, 7

## U

Überblick über den Workflow
Allgemein, 119
Überprüfen der Geräteverbindung, 115
Übersicht über den Workflow
Western mit Gesamtprotein-Normalisierung, 120

## V

Verbrauchsmaterialien
Bestellen, 62
Lagerung, 63
Verfahren im Notfall
Notausschaltung, 33
Stromausfall, 33

Verfahren nach der Elektrophorese, 146
Vormarkierung
Beispiel pH-Wert, 129
Kompatible Lysepuffer, 129
Vorrichtung
Indikatoren, 39

## W

Wartung
Austauschen der Netzsicherung, 217
Austauschen der Transferelektroden, 214
Austauschen des Einlassfilters, 216
Austauschen des Luftfilters, 208
Austauschen des Sondierungs- oder Transferpumpenkopfes, 210
Austauschen des Transferbehälterfilters, 215
Wartung frei von Sondierungsströmungsweg, 204
Wartung frei von Transferströmungsweg, 203
Wartungsprogramm, 194
Zubehör, 207
Wartungsfach
Austauschen der Pumpenköpfe, 210
Austauschen des Luftfilters, 208
Beschreibung, 54
Western Experiment
Überblick, 119
Western-Experiment
Beschreibung, 118
Western Geräteeinheit, 45
Antikörperfach, 53
Sondierungsfach, 51
Starten, 123
Transferbehälter, 50
Trocknungsfach, 52
Wartungsfach, 54
Western Prelabeling-Protokoll, 131

Diese Seite ist absichtlich leer

Diese Seite ist absichtlich leer

Kontaktinformationen für lokale Niederlassungen finden Sie unter
www.gelifesciences.com/contact

GE Healthcare UK Limited
Amersham Place
Little Chalfont
Buckinghamshire, HP7 9NA
Vereinigtes Königreich

www.gelifesciences.com

GE und GE-Monogramm sind Marken von General Electric Company.

Amersham, Cy, CyDye, MiniTrap und Sephadex sind Marken von GE Healthcare oder einer ihrer Tochtergesellschaften.

Microsoft und Windows sind eingetragene Marken von Microsoft Corporation.

Tween ist eine Marke von Uniqema Americas LLC.

**CyDye:** Dieses Produkt wird unter einer ausschließlichen Lizenz von Carnegie Mellon University hergestellt und ist durch die US-Patentnummern 5.569.587 und 5.627.027 geschützt.

Der Erwerb von CyDye Produkten umfasst eine begrenzte Lizenz zur Verwendung der CyDye Produkte für interne Forschungs- und Entwicklungszwecke, nicht aber für gewerbliche Zwecke. Die Lizenz zur Verwendung der CyDye Produkte für gewerbliche Zwecke unterliegt einer separaten Lizenzvereinbarung mit GE Healthcare.

Alle anderen Marken sind das Eigentum der jeweiligen Besitzer.

© 2014-2015 General Electric Company – Alle Rechte vorbehalten.
Erstveröffentlichung im März 2014

Der Verkauf aller Waren und Dienstleistungen unterliegt den Verkaufsbedingungen der Firma innerhalb von GE Healthcare, die diese liefert. Eine Kopie dieser Bedingungen ist auf Anfrage erhältlich. Wenden Sie sich an Ihren GE Healthcare Vertreter bezüglich der aktuellsten Informationen.

GE Healthcare Bio-Sciences AB
Björkgatan 30, 751 84 Uppsala, Sweden

GE Healthcare Europe GmbH
Munzinger Strasse 5, D-79111 Freiburg, Germany

GE Healthcare Bio-Sciences Corp.
800 Centennial Avenue, P.O. Box 1327, Piscataway, NJ 08855-1327, USA

GE Healthcare Japan Corporation
Sanken Bldg. 3-25-1, Hyakunincho Shinjuku-ku, Tokyo 169-0073, Japan

29-0214-77 AE 03/2015 a24